

**Zakład Laboratoryjnej Diagnostyki Klinicznej  
Uniwersytetu Medycznego  
w Białymstoku**

---

Białystok, 13.03.2023

**Recenzja rozprawy doktorskiej mgr Katarzyny Michalskiej pt.: "Rola polimorfizmów genów kodujących wybrane transportery z nadrodziny ABC oraz rodziny OATP w predyspozycji do rozwoju oraz skuteczności terapii szpiczaka mnogiego"**

**Praca realizowana w Zakładzie Biochemii Farmaceutycznej i Diagnostyki Molekularnej  
Uniwersytetu Medycznego w Łodzi**

**Promotor – prof. dr hab. n. farm. Marek Mirowski**

Szpiczak plazmocytowy (mnogi) jest chorobą nowotworową charakteryzującą się monoklonalnym rozrostem komórek plazmatycznych. Rozwijają się zwykle z bezobjawowej gammapatii (MGUS), którą obserwuje się u ok. 3% populacji powyżej 50 roku życia. Szpiczak mnogi jest drugim pod względem częstości zachorowań nowotworem układu limfoidalnego po przewlekłej białaczce limfocytowej (CML). Wśród objawów najczęściej występują bóle kostne wynikające z ubytków osteolitycznych i patologicznych złamań, głównie trzonów kręgowych, którym może towarzyszyć osteoporoza. W postaci bardziej zaawansowanej występują złamania patologiczne kości długich i żeber. Mogą pojawiać się nawracające infekcje i objawy anemii. Nefropatia pojawia się gdy zostaną przekroczone zdolności absorpcji łańcuchów lekkich przez kanaliki nerkowe co prowadzi do śródmiąższowego zapalenia nerek. Pogorszenie funkcji nerek następuje na skutek hiperkalcemii, odkładania się amyloidu (łańcuchy  $\lambda$ ), infekcji, hiperurikemii. Neuropatia jest spowodowana przez ucisk guza nowotworowego na rdzeń kręgowy lub nerwy czaszkowe. Polineuropatia jest spowodowana odkładaniem się amyloidu w otoczkach nerwowych lub jako część zespołu POEMS. U chorych na szpiczaka mnogiego obserwuje się nadmierną lepkość krwi oraz koagulopatie.

Szpiczak plazmocytowy jest złożonym genetycznie nowotworem i dotychczas nie poznano jego molekularnych podstaw. Wiadomo, że MGUS to gammapatia monoklonalna, w której ryzyko progresji do szpiczaka mnogiego wynosi ok. 1% rocznie. Działa wiele czynników

– środowiskowych, fizycznych, chemicznych, biologicznych i genetycznych. Przyczyna choroby jest nieznana, prawdopodobnie wieloetapowa ewolucja genomowa oraz zmiany mikrośrodowiskowe doprowadziły do proliferacji zmienionych komórek plazmatycznych.

Z uwagi na powyższe, cel i założenia przedłożonej do recenzji rozprawy doktorskiej są niezwykle istotne i wpisują się w ogólnoświatowe trendy naukowe i kliniczne.

Przedstawiona do oceny dysertacja jest opracowaniem na podstawie cyklu trzech publikacji oryginalnych. W mojej ocenie, układ pracy jest przejrzysty i zgodny z wymaganiami stawianymi rozprawom doktorskim.

Dysertację rozpoczyna spis treści, wykaz publikacji stanowiących podstawę rozprawy doktorskiej, zestawienie całkowitego dorobku naukowego, opis sylwetki naukowej doktorantki oraz wykaz skrótów. Właściwą treść rozprawy rozpoczyna zwięzłe wprowadzenie, które w sposób syntetyczny i kompleksowy omawia zagadnienia związane z tematem rozprawy doktorskiej. Doktorantka omówiła obecny stan wiedzy na temat szpiczaka plazmacytowego (mnogiego), charakterystykę kliniczną oraz aberracje cytogenetyczne. Poznanie szlaków nowotworzenia na poziomie molekularnym przyczynia się do lepszego zrozumienia mechanizmów prowadzących do powstania nowotworu, rozwoju nowoczesnej diagnostyki i terapii oraz poprawy skuteczności leczenia. Doktorantka omówiła główne rodziny błonowych transporterów komórkowych, koncentrując się na białkach z rodziny ABC i OATP. Transportery ABC (odkomórkowe) aktywnie transportują substancje z komórek, wykorzystując ATP jako źródło energii. Transportery OATP pośredniczą w transporcie przezbłonowym i wykazują charakterystyczną obecność w wielu tkankach nowotworowych i prawdopodobnie mogą pełnić rolę markerów nowotworowych. Rola transporterów błonowych jest istotna ze względu na ich udział w fizjologicznych procesach komórkowych, w rozwoju nowotworów oraz w transporcie leków przeciwnowotworowych. Wśród substratów transporterów ABC i OATP znajduje się wiele leków stosowanych w chemioterapii nowotworów m. in. w leczeniu szpiczaka mnogiego. Częściowo poznane podłoże genetyczne szpiczaka mnogiego nie wyjaśnia kolejnych zmian genetycznych wpływających na progresję choroby i skuteczność terapii przeciwnowotworowej. Potencjalny związek pomiędzy polimorfizmami genetycznymi i ich wpływem na ekspresję genów oraz funkcję i aktywność białek a rozwojem nowotworów stanowi istotny problem badawczy.

Przedstawiona mi do recenzji rozprawa doktorska jest cyklem trzech tematycznie powiązanych prac oryginalnych opublikowanych w latach 2018 – 2022 o łącznej punktacji IF 6,743 i punktacji MEiN 155 pkt. We wszystkich trzech publikacjach Pani mgr Katarzyna

Michalska jest pierwszym autorem, a swój udział w przygotowaniu poszczególnych publikacji ocenia na 50%, 50% i 49%.

Głównym założeniem i celem naukowym rozprawy doktorskiej było zbadanie wybranych polimorfizmów genów kodujących transportery błonowe z nadrodziny ABC oraz rodziny OATP (gp-P, BCRP, OATP1B1) i określenie ich wpływu na predyspozycje rozwoju oraz skuteczność terapii przeciwnowotworowej w szpiczaku mnogim. Badania były prowadzone na poziomie DNA z zastosowaniem technik biologii molekularnej.

W rozdziale „Część doświadczalna” doktorantka opisała grupę badaną, grupę kontrolną, przedstawiła koncepcję i plan badań, metodykę badań, analizę statystyczną i omówienie wyników, dyskusję, podsumowanie wyników oraz wnioski końcowe. Przebadano 181 chorych z rozpoznaniem szpiczaka mnogiego leczonych w Klinice Hematologii Uniwersytetu Medycznego w Łodzi w latach 1992-2002 (materiał archiwalny). Grupę kontrolną stanowiło DNA wyizolowane od 141 zdrowych osób.

Doktorantka przeprowadziła ocenę roli czterech polimorfizmów w obrębie trzech wybranych genów kodujących białka transportowe z nadrodziny ABC oraz rodziny OATP w predyspozycji do rozwoju i skuteczności terapii szpiczaka mnogiego. Wykorzystała w badaniach technikę PCR-RFLP i oceniała następujące polimorfizmy genów: *ABCB1* (rs3213619), *ABCG2* (rs2231137, rs2231142) i *SLCO1B1* (rs2306283). Doktorantka wykazała, że występowanie polimorfizmu SNP C421A (rs2231142) genu *ABCG2* predysponuje do zwiększonego indywidualnego ryzyka rozwoju szpiczaka mnogiego i nie wpływa na czas przeżycia chorych. Wykazała również związek pomiędzy występowaniem polimorfizmu A388G (rs2306283) genu *SLCO1B1* a wiekiem (poniżej i powyżej 63 roku życia). Jednocześnie doktorantka wykazała, że genotyp GG polimorfizmu A388G genu *SLCO1B1* związany jest z dłuższym przeżyciem w przypadku stosowania schematu MP w odniesieniu do innych analizowanych rodzajów terapii stosowanych w szpiczaku plazmocytowym. Doktorantka tłumaczy również dlaczego nie uzyskała istotności badanych SNPs w swoich badaniach.

Rozprawę kończy streszczenie w języku polskim i angielskim, w którym doktorantka w sposób klarowny i zrozumiały przedstawiła założenia, metodykę oraz uzyskane wyniki badań. Kolejny rozdział pracy stanowi spis literatury zawierający 87 pozycji wyłącznie anglojęzycznych z lat 2002 -2022. Dysertację zamykają kopie publikacji będących podstawą rozprawy doktorskiej (I-III), oświadczenia autorki i współautorów. Całkowity dorobek naukowy Pani mgr Katarzyny Michalskiej to autorstwo lub współautorstwo 9 oryginalnych prac naukowych o łącznym współczynniku IF 31,689 i punktacji MEiN 765.

W mojej ocenie przedstawione wyniki badań wnoszą bardzo wiele zupełnie nowych informacji na temat udziału polimorfizmów genów kodujących transportery komórkowe w szpiczaku mnogim. Wyniki badań przeprowadzonych przez Doktorantkę są niezwykle interesujące, mają wysoki potencjał implikacyjny i mogą stanowić wstęp do dalszych badań mechanizmów molekularnych w szpiczaku mnogim i innych chorobach nowotworowych.

Podsumowując uważam, że przedłożona do recenzji dysertacja jest przemyślana oraz dobrze zaprojektowaną pracą i zawiera wszystkie wymagane elementy rozprawy doktorskiej.

Wyniki badań przedstawiono w sposób logiczny, rzetelny, przejrzysty i konsekwentny, co potwierdza umiejętność Doktorantki do samodzielnego projektowania i prowadzenia prac badawczych. **W związku z powyższym wnioskuję o uznanie dysertacji za wyróżniającą się.**

Stwierdzam zatem, że rozprawa doktorska Pani mgr Katarzyny Michalskiej pt.: "Rola polimorfizmów genów kodujących wybrane transportery z nadrodziny ABC oraz rodziny OATP w predyspozycji do rozwoju oraz skuteczności terapii szpiczaka mnogiego" stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego i spełnia wszystkie wymogi zwyczajowe i ustawowe, stawiane rozprawom doktorskim w postępowaniu o nadanie stopnia doktora nauk medycznych, określone w art. 187 ustawy z dnia 20 lipca 2018 roku. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2022 r., poz.574). W związku z powyższym wnoszę do Wysokiego Senatu Uniwersytetu Medycznego w Łodzi wniosek o dopuszczenie Pani Katarzyny Michalskiej do dalszych etapów postępowania o nadanie stopnia doktora oraz o wyróżnienie rozprawy doktorskiej.

Kierownik

Zakładu Laboratoryjnej Diagnostyki Klinicznej

  
Prof. dr hab. n. med. Joanna Matowicka-Karna