



UNIWERSYTET MEDYCZNY

IM. PIASTÓW ŚLĄSKICH WE WROCŁAWIU

Wrocław, 01 grudnia 2023 r.

Dr hab. n.med. Marta Sobas

Klinika Hematologii, Nowotworów Krwi

i Transplantacji Szpiku

Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

Recenzja

Rozprawy doktorskiej lek. Patryka Sobieralskiego

pt. „Zależność pomiędzy dynamiką zmian molekularnych a obrazem klinicznym w nowotworach mieloproliferacyjnych”

(“Dependency between the molecular profile and clinical picture in myeloproliferative neoplasms”)

Zgodnie z uchwałą Rady Nauk Medycznych Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego z dnia 12 października 2023 r., powołującą mnie do wypełnienia obowiązków recenzenta w przewodzie doktorskim lek. Patryka Sobieralskiego pracy zatytułowanej „Zależność pomiędzy dynamiką zmian molekularnych a obrazem klinicznym w nowotworach mieloproliferacyjnych” i przygotowanej pod kierunkiem naukowym dr hab. Marii Bieniaszewskiej, pragnę stwierdzić co następuje:

1. analizowana rozprawa stanowi oryginalne rozwiązanie przez Doktoranta zagadnienia naukowego,
2. Doktorant wykazał się wiedzą z zakresu nowotworów mieloproliferacyjnych
3. Lektura przedłożonej pracy potwierdza umiejętności Doktoranta do prowadzenia pracy naukowej.

Przygotowana przez Doktoranta rozprawa doktorska w pełni odpowiada kryteriom wynikającym z ustawy o stopniach naukowych i tytule naukowym. W uzasadnieniu tych ocen



UNIwersytet Medyczny

IM. PIASTÓW ŚLĄSKICH WE WROCLAWIU

poniżej przedstawiam uwagi i spostrzeżenia merytoryczne dotyczące recenzowanej rozprawy doktorskiej.

1. Uwagi ogólne

Autor rozprawy podejmuje bardzo istotny klinicznie i badawczo problem analizy dynamiki zmian genetycznych wśród chorych z nowotworami mieloproliferacyjnymi bez obecności chromosomu Filadelfia (MPN Ph-neg).

NPM Ph-neg to choroby rozrostowe układu krwiotwórczego charakteryzujące się nadmierną produkcją krwinek oraz ekspresją cytokin prozapalnych. Do klasycznych MPN Ph-neg zaliczamy nadpłytkowość samoistną (ang. ET), czerwienicę prawdziwą (ang. PV) oraz włóknienie szpiku (ang. MF) pierwotne i wtórne do ET lub PV. W patogenezie MPN Ph-neg opisywane są zaburzenia przekazywania sygnałów komórkowych w następstwie konstytutywnej aktywacji szlaku JAK-STAT, za którego aktywację odpowiadają tzw. mutacje „wiodące” w genach JAK2, CALR i MPL. W ostatnich latach, dzięki technice NGS (ang. Next General Sequencing), poza mutacjami wiodącymi, zidentyfikowano szereg mutacji towarzyszących, których znaczenie kliniczne zwłaszcza w PV oraz ET nie jest dobrze poznane. Autor podkreśla, że większość opublikowanych dotychczas prac skupia się na analizie genetycznej wykonanej w jednym punkcie kontrolnym (przy diagnozie lub w chwili transformacji); brak jest danych na temat dynamiki zmian genetycznych i jej korelacji z kliniką.

2. Uwagi szczegółowe

Przedstawiona mi do oceny rozprawa doktorska składa się z dwóch części:

1. Monografii zawierającej 20 stron maszynopisu i składającej się z następujących części: „Wykaz prac wchodzących w skład rozprawy doktorskiej”, „Wykaz stosowanych skrótów”, „Streszczenie w języku polskim”, „Streszczenie w języku angielskim”, „Wprowadzenie”, „Cele pracy”, „Omówienie publikacji wchodzących w skład rozprawy doktorskiej”, „Podsumowanie całości rozprawy”, „Piśmiennictwo”.



UNIwersytet Medyczny

IM. PIASTÓW ŚLĄSKICH WE WROCLAWIU

2. Cyklu monotematycznego czterech artykułów (3 oryginalnych i 1 pracy kazuistycznej) opublikowanych w czterech różnych czasopismach naukowych o zasięgu międzynarodowym specjalizujących się w tematyce hematoonkologii. Publikacje ukazały się w latach 2019-2023, a ich łączny współczynnik wpływu to 11,72 (MNIŚW 319 punktów). Doktorant jest pierwszym autorem trzech prac, w jednej zaś jest drugim autorem. Doktorant załączył oświadczenia współautorów wszystkich prac wchodzących w skład cyklu monotematycznego, na podstawie których możemy stwierdzić istotny wkład Doktoranta w powstanie wyżej wymienionych publikacji. W skład cyklu publikacji wchodzi następujące artykuły:

1. Sobieralski P, Leszczyńska A, Bieniaszewska M. Late polycythemic transformation in JAK2-mutated essential thrombocythemia patients-characteristics along with a validation of 2016 WHO criteria. *Eur J Haematol.* 2019;103(6):558-563.
2. Sobieralski P, Bieniaszewska M, Leszczyńska A, Żuk M, Wasąg B, Zaucha JM. Secondary chronic myeloid leukemia in a patient with CALR and ASXL1-mutated primary myelofibrosis. *Int J Hematol.* 2022;116(3):442-445.
3. Bieniaszewska M, Sobieralski P, Leszczyńska A, Dutka M. Anagrelide in essential thrombocythemia: Efficacy and long-term consequences in young patient population. *Leuk Res.* 2022;123:106962.
4. Sobieralski P, Wasąg B, Leszczyńska A, Żuk M, Bieniaszewska M. The molecular profile in patients with polycythemia vera and essential thrombocythemia is dynamic and correlates with disease's phenotype. *Front Oncol.* 2023;13:1224590.

Przedstawiony cykl publikacji prezentuje wyniki prac badawczych, w których tematem przewodnim jest analiza zależności między dynamiką zmian molekularnych a obrazem klinicznym w MPN Ph-neg, głównie chorych z ET oraz PV. Materiał badawczy stanowił



UNIwersytet Medyczny

IM. PIASTÓW ŚLĄSKICH WE WROCLAWIU

pacjenci z rozpoznaniem MPN Ph-neg leczeni w Klinice Hematologii I transplantologii w Gdańsku.

Pierwszym tematem analizowanym przez Doktoranta była transformacja policytemiczną chorych z ET oraz analiza kryteriów diagnostycznych w przypadku chorych z ET i PV. Do badania włączono początkowo 136 chorych z diagnozą ET z obecnością mutacji *JAK2V617F*. Następnie Doktorant przeprowadził rewalidację rozpoznania ET; z dalszej analizy wykluczono chorych, u których rozpoznano „maskowaną” PV (wg Barbui et al.) oraz PV (wg klasyfikacji WHO 2016 i 2022). Ostatecznie do badania zakwalifikowano 111 chorych z prawdziwą ET. Okres obserwacji wyniósł 9 lat. Transformację policytemiczną potwierdzono u 14 chorych, a u 9 chorych Doktorant dokonał oceny ilościowego obciążenia zmutowanym allelelm (VAF) *JAK2V617F* w dwóch punktach czasowych (przed i w chwili transformacji). Na podstawie przeprowadzonej analizy Doktorant wysnuł wniosek, że chorzy z ET i mutacja *JAK2V617F* to bardzo różnorodna grupa. Diagnoza prawdziwej ET nadal stanowi duże wyzwanie kliniczne. Zmiany VAF *JAK2V617F*, obserwowane podczas przebiegu klinicznego, nie korelują z transformacją policytemiczną, a mechanizmy odpowiedzialne za ewolucję fenotypu wymagają dalszych badań. Wyniki tej pracy zostały opublikowane w *European Journal of Haematology* w 2019 r.

Uzupełnieniem rozważań na temat czynników wpływających na ewolucję klonalną wśród chorych z MPN Ph-neg, była analiza przypadku chorej z ET i mutacji *CALR* typ-2, u której po 10-letniej obserwacji rozpoznano transformację do wtórnego włóknienia szpiku (pojawienie się mutacji *ASXL1*) i pojawienie się klonu przewlekłej białaczki szpikowej (pojawienie się transkryptu BCR-ABL). Doktorant, opisując ten przypadek, pokazał jak niejednorodną grupą chorych są pacjenci z MPN Ph-neg. Tylko wnikliwa diagnostyka molekularna umożliwiła dobór odpowiedniego leczenia chorych. Opisany przypadek został opublikowany w *International Journal of Hematology* w 2022 r.

Kolejnym tematem, na którym skupił się Doktorant była analiza wpływu długoterminowej terapii anagrelidem (ANA) lub hydroksymocznikiem (HU) na prezentację fenotypową



UNIwersytet Medyczny

IM. PIASTÓW ŚLĄSKICH WE WROCLAWIU

chorych z ET i z PV. Wyniki tej analizy Doktorant przedstawił w dwóch publikacjach (nr 3 i 4). W publikacji nr 3 Doktorant przeprowadził analizę na populacji chorych z ET długotrwale (min. 10 lat) leczonych ANA. Do badania włączono 48 młodych chorych. Doktorant zaobserwował, że chorzy z ET i mutacją *JAK2V617F* wykazują lepszą odpowiedź i tolerancję ANA. W przypadku chorych z ET bez mutacji *JAK2V617F* obserwowano częstsze przypadki transformacji do wtórnej mielofibrozy (post-ET MF) oraz niedokrwistości niezwiązanej z transformacją do post-ET MF. Na podstawie przeprowadzonej analizy Doktorant postuluje planowanie terapii, zwłaszcza wśród młodszych chorych z MPN Ph-neg, na podstawie wyników badań molekularnych. Wyniki badania zostały opublikowane w *Leukemia Research* w 2022 r.

W publikacji nr 4 Doktorant przedstawił wpływ terapii HU na chorych z rozpoznaniem ET i PV. W tym celu Doktorant przeprowadził analizę dynamiki VAF *JAK2V617F* oraz pojawienie się ewentualnych mutacji towarzyszących podczas obserwacji u chorych bez oraz z HU w monoterapii. Na podstawie przeprowadzonej analizy Doktorant sugeruje, że zastosowanie HU wpływa w nieznacznym stopniu na redukcję VAF *JAK2V617F* podczas obserwacji, sprzyja zaś nabywaniu mutacji towarzyszących. Zjawisko to nie było obserwowane u chorych bez terapii HU. W tej samej publikacji Doktorant zanalizował dynamikę VAF *JAK2V617F*, współwystępowanie ewentualnych mutacji towarzyszących oraz użyteczność nowego systemu prognostycznego Mutation-enhanced international prognostic systems (ang. MIPSS) dla ET (MIPSS-ET) i dla PV (MIPSS-PV), z ich przebiegiem klinicznym (rozwoju mielodysplazji lub progresja do włóknienia szpiku). We wnioskach końcowych, Doktorant postuluje ograniczoną użyteczność wskaźników prognostycznych MIPSS-ET/PV. Wyniki tej analizy zostały opublikowane w *Frontiers Oncology* w 2023 r.

Poniżej przedstawię uwagi, które nasunęły się podczas lektury rozprawy doktorskiej:

- W związku z retrospektywnym charakterem badania dynamika zmian VAF *JAK2V617F* nie była przeprowadzona u wszystkich chorych i w ściśle określonych punktach kontrolnych.



UNIwersytet Medyczny

IM. PIASTÓW ŚLĄSKICH WE WROCLAWIU

- Analizę przeprowadzono na małej i niezbyt jednorodnej grupie chorych (zwłaszcza w przypadku publikacji 3 i 4). Doktorant doskonale zdaje sobie sprawę z tego problemu i zwraca uwagę na konieczność przeprowadzenia badań prospektywnych na większej i lepiej scharakteryzowanej grupie.

Powyższe uwagi nie zmniejszają wartości merytorycznej zarówno przeprowadzonych badań, analiz jak i wnioskowania.

PODSUMOWANIE I WNIOSEK

W mojej ocenie przedstawiona mi rozprawa doktorska porusza aktualne i ważne kwestie, dotyczące potencjalnych czynników wpływających na ewolucję klonalną chorych z MPN Ph-neg. Praca jest napisana starannie, dobrze rozplanowana. Doktorant, wykazując się dużą znajomością tematyki, dokonuje szeroko zakrojonej analizy wyników własnych, zestawiając je z uprzednio opublikowanymi badaniami. Jest świadomy ograniczeń przeprowadzonej analizy i wskazuje na konieczność dalszych badań na większych i lepiej sprecyzowanych grupach pacjentów. Potwierdzeniem jakości przedstawionej mi do recenzji rozprawy doktorskiej jest fakt, że wyniki pracy zostały już opublikowane w czasopiśmie międzynarodowym o wysokim wskaźniku wpływu.

W związku z powyższym uważam, iż przedstawiona mi do oceny rozprawa, spełnia warunki określone w art. 187 Ustawy Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (t.j. Dz. U. z 2021 r. poz 478 ze zm). Na tej podstawie wnioskuję o dopuszczenie Doktoranta Patryka Sobieralskiego do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Dodatkowo wnoszę o wyróżnienie rozprawy doktorskiej z racji jej wysokiej jakości i wartości merytorycznej.

Z poważaniem

dr hab.n.med. Marta Sobas
Specjalista Hematolog
2592310