

Prof. dr hab. med. Jerzy R. Kowalczyk

**Recenzja rozprawy doktorskiej lek. Karolina Gawle-Krawczyk p.t. „Wpływ poziomu ekspresji czynnika transkrypcyjnego SOX4 na rokowanie u dzieci z ostrą białaczką limfoblastyczną”**

Zasadniczą rolę w powstawaniu białaczki odgrywają zaburzenia genetyczne o charakterze różnego rodzaju mutacji w obrębie DNA komórek. Dotyczą one w szczególności genów związanych z fizjologicznym przebiegiem i kontrolą procesu krwiotworzenia, onkogenów oraz genów supresorowych, regulujących proces apoptozy. W rezultacie komórki uwolnione są spod mechanizmów kontrolnych, co prowadzi do ich niekontrolowanego namnażania komórek o zmienionych cechach. Rearanżacje genetyczne w ostrej białaczce limfoblastycznej mają obecnie ogromne znaczenie przy stratyfikacji pacjentów do określonych grup ryzyka, co warunkuje dobór leczenia o odpowiedniej intensywności. Precyzyjna diagnostyka molekularna nabiera szczególnego znaczenia wówczas, gdy u pacjentów nie stwierdza się innych znaczących czynników ryzyka nawrotu choroby, a obecność określonych rearanżacji genetycznych może wskazywać na konieczność zastosowania bardziej intensywnych programów terapeutycznych.

Dlatego uważam, że podjęcie przez lek. Karolinę Gawle-Krawczyk badań nad ekspresją czynnika transkrypcyjnego SOX4 w kontekście czynników rokowniczych w ostrej białaczce limfoblastycznej u dzieci jest w pełni uzasadnione i zasługuje na najwyższe uznanie. Wyniki badań przeprowadzonych przez dr Gawle-Krawczyk przedstawione zostały w przekazanej mi do oceny rozprawie doktorskiej.

Zasadniczym celem pracy było określenie, czy istnieje zależność pomiędzy poziomem ekspresji SOX4 w chwili rozpoznania ALL, a przebiegiem klinicznym choroby oraz rokowaniem. Projekt badania został zaakceptowany przez Komisję Bioetyczną Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego (KB/291/2013, KB/76/2015). Badaną grupę stanowiło 74 pacjentów z ostrą białaczką limfoblastyczną diagnozowanych i leczonych w Klinice Pediatrii, Hematologii i Onkologii Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego,

według programu terapeutycznego ALL IC BFM 2009 w okresie od lipca 2014 do grudnia 2017 r.

Rozprawa doktorska lek. med. Karoliny Gawle-Krawczyk liczy ogółem 99 stron maszynopisu, zawiera 18 tabel i 30 rycin. Stanowią one czytelną ilustrację pracy i są wykonane bardzo starannie. Piśmiennictwo liczy 131 pozycji polskich i obcojęzycznych, w większości z ostatnich 10 lat. Piśmiennictwo jest właściwie wykorzystane w tekście, jednakże zalecałbym uporządkowanie zapisu: w części publikacji podawanych jest 4-6 współautorów, w innych tylko pierwszy autor. Praca jest podzielona na następujące części: „Wstęp”, „Założenia i Cel pracy”, „Materiał i metody”, „Wyniki”, „Dyskusja”, „Wnioski”, „Piśmiennictwo”. Ponadto w pracy zamieszczono wykaz użytych skrótów, spis tabel i rycin, oraz streszczenie pracy w języku polskim i angielskim. Redakcyjny podział pracy na rozdziały i ich wzajemne proporcje objętościowe nie budzą zastrzeżeń.

We „Wstępie” doktorantka przedstawiła najważniejsze informacje dotyczące obrazu klinicznego, klasyfikacji i czynników rokowniczych ostrej białaczki limfoblastycznej u dzieci, w tym zaburzeń genetycznych w komórkach blastycznych. W kolejnej części Wstępu doktorantka przedstawiła aktualne poglądy na rolę czynnika transkrypcyjnego SOX4 w hematopoezie i powstawaniu nowotworów, a następnie omówiła aktualne dane dotyczące przydatności klinicznej oznaczania ekspresji SOX4 i jego roli w rozwoju białaczek. Cel pracy został przedstawiony przez lek. K. Gawle-Krawczyk w sposób jasny, precyzyjny i nie nasuwający żadnych zastrzeżeń.

W rozdziale pt. „Materiał i metodyka” doktorantka przedstawiła charakterystykę badanych pacjentów z ostrą białaczką limfoblastyczną, przyjęte kryteria rozpoznania oraz dane kliniczne, które były wykorzystywane do analiz. Przedstawiono również wykaz odczynników i aparatury wykorzystanych w badaniach molekularnych, oraz dokładnie opisano metody zastosowane do oceny ekspresji SOX4. Na końcu tego rozdziału przedstawiono też zastosowane metody analizy statystycznej uzyskanych wyników badań.

Wyniki własnych badań doktorantka przedstawiła w odpowiednim rozdziale oraz w formie 11 tabel i 27 rycin. Doktorantka dokonała analizy klinicznej 74 dzieci z rozpoznaniem ostrej białaczki limfoblastycznej. Średni czas obserwacji liczony od momentu rozpoznania choroby w badanej grupie wyniósł ponad 43 miesiące, z medianą 47,5 miesięcy. U 6 pacjentów (8,11%) wystąpiła wznowa, a u 5 (6,76%) doszło do zgonu. W badanej grupie dzieci prawdopodobieństwo 3-letniego przeżycia wolnego od zdarzeń wyniosło 89,0%, natomiast prawdopodobieństwo przeżycia 5-letniego to 81,1%. U wszystkich pacjentów zbadano ekspresję czynnika SOX4 na poziomie RNA metodą RT-PCR. Doktorantka podzieliła badaną

populację na dwie grupy, ze względu na medianę poziomu ekspresji SOX4. Pierwsza z nich charakteryzowała się ekspresją SOX4 niższą niż mediana, druga - poziomem ekspresji wyższym niż mediana. Analizując dane kliniczne dzieci z obu grup doktorantka stwierdziła, że, ekspresja SOX4 w chwili rozpoznania ALL była wyższa u dzieci z wyższą leukocytozą, wyższym odsetkiem blastów w krwi obwodowej, oraz sterydoopornością stwierdzaną w 8 dobie leczenia. Nie stwierdzono natomiast zależności między poziomem ekspresji SOX4 a wiekiem dziecka w momencie rozpoznania, płcią, immunofenotypem białaczki, obrazem szpiku w 15 dobie, minimalną chorobą resztkową w 15 dobie, hiperdiploidią, aktywnością LDH i grupą ryzyka. Nie wykazano także zależności między poziomem ekspresji SOX4 w chwili rozpoznania, a prawdopodobieństwem czasu przeżycia wolnego od niekorzystnych zdarzeń. Omawiając rozdział pt. Wyniki chcę zwrócić uwagę na niepotrzebne powtórzenia podsumowujące te same dane (str. 61, 63, 65, 71,77).

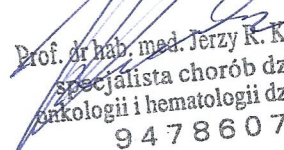
Rozdział poświęcony „Dyskusji” dowodzi umiejętności naukowego myślenia i zdolności do właściwego przedstawiania wyników własnych badań przez lek. med. Karolinę Gawle-Krawczyk. Doktorantka potrafiła na podstawie własnych badań przeprowadzić dokładną analizę i dyskusję z wynikami uzyskanymi przez innych autorów i równocześnie przedstawiła krytyczną ocenę uzyskanych wyników zdając sobie sprawę z niedoskonałości związanych z analizą danych klinicznych. Na podstawie analizy wyników własnych badań Doktorantka formułuje 3 końcowe wnioski, które dokumentują osiągnięcie postawionych celów. Największym mankamentem jest stosunkowo niewielka liczba pacjentów, u których możliwe było wykonanie badań ekspresji SOX4. Z tego względu uzyskane wyniki mogą być nieco rozczarowujące. Tym niemniej należy podkreślić, że Doktorantka opanowała nowoczesny warsztat badań molekularnych i dzięki temu w przyszłości ma szanse kontynuacji badań na większej liczbie pacjentów.

Przedstawiona mi do oceny praca jest ważnym i oryginalnym wkładem Doktorantki do rozumienia biologii i patogenyzy ostrej białaczki limfoblastycznej. Podjęcie tego tematu przez lek. med. Karolinę Gawle-Krawczyk było w pełni uzasadnione, a założone cele zostały osiągnięte. Sposób realizacji pracy świadczy o zdolności autorki do logicznej interpretacji obserwowanych zjawisk oraz jej umiejętności przedstawiania swoich badań w formie pracy odpowiadającej wymogom stawianym rozprawom doktorskim.

Oceniając pozytywnie pracę doktorską pt. : **„Wpływ poziomu ekspresji czynnika transkrypcyjnego SOX4 na rokowanie u dzieci z ostrą białaczką limfoblastyczną”**

stwierdzam, że spełnia ona warunki określone w art.13 Ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U.nr 65, poz.695 z późn. zm.), w związku z art.179 ust.1 ustawy z dnia 3 lipca 2018 r. Przepisy wprowadzające ustawę – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce ( Dz.U. z 2018 r. poz. 1669 z późn.zm.). W związku z tym mam zaszczyt przedstawić Wysokiej Radzie Dyscypliny Nauk Medycznych Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego wnioski o dopuszczenie lek. med. Karoliny Gawle-Krawczyk do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Lublin, 27.10.2020 r.

  
Prof. dr hab. med. Jerzy R. Kowalczyk  
specjalista chorób dzieci,  
onkologii i hematologii dziecięcej  
9478607