

**Recenzja**  
**Rozprawy doktorskiej**  
**lek. Karoliny Gawle-Krawczyk**  
**pt. Wpływ poziomu ekspresji czynnika transkrypcyjnego SOX4**  
**na rokowanie u dzieci z ostrą białaczką limfoblastyczną**

Ostra białaczka limfoblastyczna jest najczęściej występującą chorobą hematoonkologiczną u dzieci.

Wprowadzenie międzynarodowych, wielośrodkowych badań klinicznych oraz dynamiczny rozwój badań molekularnych w tej chorobie przyczynił się do poznania niektórych molekularnych mechanizmów jej powstawania, precyzyjnej diagnostyki, nowoczesnej opartej o cechy molekularne klasyfikacji pacjentów do grup ryzyka, oceny odpowiedzi na zastosowaną terapię, monitorowania tzw. choroby resztkowej w trakcie leczenia i po jego zakończeniu a także wykrywania na poziomie molekularnym wznowy choroby. Dzięki temu postępowi w ostatnich dekadach wyniki leczenia dzieci z ALL uległy spektakularnej poprawie. Obecnie ponad 80% z nich ma szansę na trwałe wyleczenie.

Pokłada się nadzieję, że dalsze profilowanie molekularne pozwoli na wyodrębnienie nowych specyficznych dla ALL markerów predykcyjnych i prognostycznych, które zostaną wykorzystane w praktyce klinicznej przyczyniając się do dalszej optymalizacji leczenia dzieci ze schorzeniami onkohematologicznymi.

Autorka dołączyła do grona naukowców badających ten problem.

W przedstawionej do recenzji pracy Doktorantka podjęła się zbadania roli czynnika transkrypcyjnego SOX4 w rozwoju i przebiegu ostrej białaczki limfoblastycznej u dzieci.

SOX4 jest czynnikiem transkrypcyjnym regulującym między innymi wzrost, różnicowanie oraz apoptozę komórek. Nadekspresja i amplifikacja SOX4 związane są z powstawaniem niektórych schorzeń nowotworowych i ich niekorzystnym przebiegiem. W dostępnym piśmiennictwie można znaleźć pracę sugerującą, że SOX4 ma znaczenie prognostyczne w ostrej białaczce szpikowej u dorosłych oraz że, odgrywa rolę w leukemogenezie. Inne publikacje wskazują, że ekspresja SOX4 jest szczególnie wysoka w ostrej białaczce limfoblastycznej u dorosłych w porównaniu do przewlekłej białaczki limfocytarnej i zdrowej populacji. Opublikowano jedną pracę,

która wskazuje na potencjalną rolę SOX4 jako czynnika rokowniczego w ALL z translokacją BCR-ABL1 u dzieci.

Przedstawiona do recenzji praca jest zatem jedyna i pionierska w Polsce.

Wobec powyższych faktów uważam, że wybór czynnika transkrypcyjnego SOX4 i zbadanie jego roli w ALL jest uzasadniony medycznie, bardzo ciekawy, aktualny i oryginalny.

Praca ma typowy układ edytorski, liczy 109 stron, składa się z 7 rozdziałów i 16 podrozdziałów, i jest ilustrowana 30 rycinami oraz 18 tabelami umieszczonymi i omówionymi w tekście. Piśmiennictwo, obejmujące 131 pozycji, zawierające najważniejsze i najnowsze publikacje (33 pozycji z ostatnich 5 lat) związane z omawianym tematem, jest właściwie dobrane i cytowane. Autorka powołuje się również na autorów polskich. Treść pracy odpowiada jej tytułowi, podobnie jak treść rozdziałów z ich nagłówkami. Poszczególne części rozprawy mają właściwe proporcje.

We wstępie Doktorantka przedstawia szczegółowo epidemiologię oraz współczesne zasady postępowania diagnostyczno-terapeutycznego u dzieci z ALL. Opisuje przyczyny niepowodzeń terapii i wywodzi, że konieczne jest określenie dodatkowych czynników rokowniczych w ALL u dzieci. Następnie omawia czynnik transkrypcyjny SOX4 jego funkcje w embriogenezie, rolę w hematopoezie i powstawaniu schorzeń nowotworowych. W oparciu o dostępne piśmiennictwo wskazuje, że białko SOX4 może być potencjalnym markerem nowotworowym przydatnym w praktyce klinicznej. Wyniki opublikowanych badań u dorosłych wykazują korelację pomiędzy poziomem ekspresji SOX4 ze stopniem zaawansowania raka prostaty i piersi, najczęstszych nowotworów u ludzi.

Autorka w końcowej części wstępu przedstawia argumenty przemawiające za wyborem tematyki dysertacji z określeniem roli SOX4 w ostrej białaczce limfoblastycznej u dzieci.

Wstęp napisany jest syntetycznie, wyczerpująco i przejrzysto.

Cel pracy został jasno sformułowany. Za cel pracy Doktorantka obrała ocenę ekspresji czynnika transkrypcyjnego SOX4 w blastach pacjentów w momencie rozpoznania ALL i jego roli jako czynnika prognostycznego w tej chorobie u dzieci.

W rozdziale „Materiał, metody” Autorka szczegółowo opisała metodologię przeprowadzonych badań u 74 pacjentów z nowym rozpoznaniem ostrej białaczki limfoblastycznej leczonych w latach 2014-2017 oraz zastosowane analizy statystyczne. Opisała z jakich metod korzystała w wyborze optymalnego punktu odcięcia dla ekspresji SOX4.

Doktorantka uzasadniła dobór wybranych metod statystycznych.

Zastosowane metody tak molekularne jak i obliczeniowe są zgodne ze standardami badań naukowych.

W rozdziale „Wyniki” lek med. Gawle-Krawczyk scharakteryzowała pacjentów pod względem wieku, płci, liczby białych krwinek, immunofenotypu komórek nowotworowych, danych cytogenetycznych a także wstępnej odpowiedzi na leczenie. W oparciu o uzyskane dane określiła grupy ryzyka oraz przeżycia wolne od zdarzeń pacjentów w zależności od najistotniejszych parametrów klinicznych a także w 3 grupach ryzyka. Następnie Autorka scharakteryzowała ekspresję SOX4 w badanej grupie pacjentów, wyróżniła dwie grupy niskiej i wysokiej ekspresji SOX4 (poniżej i powyżej mediany stwierdzanych wartości). W kolejnym etapie z użyciem testów statystycznych opisanych w części „metody” przeprowadziła analizę zależności pomiędzy ekspresją SOX4 a określonymi parametrami demograficznymi i klinicznymi.

Uzyskane wyniki przedstawiła w postaci opisowej oraz w odpowiednich rycinach i tabelach. Godna uwagi jest forma, w jaki Doktorantka przedstawiła wyniki. Jest doskonała. Pozwala bez trudu na prześledzenie i zrozumienie badanych przez Autorkę korelacji między poziomem SOX4 i wybranymi przez nią parametrami.

Podsumowując wyniki Doktorantka w oparciu o przeprowadzone analizy u 74 dzieci z ALL wykazała, że istnieje zależność pomiędzy poziomem ekspresji SOX4 a liczbą krwinek białych, odsetkiem komórek blastycznych we krwi obwodowej w momencie rozpoznania oraz odpowiedzią na leczenie steroidami. Analiza nie wykazała znamiennej statystycznego znaczenia poziomu ekspresji SOX4 na pozostałe badane parametry kliniczne chociaż zaobserwowano trend wskazujący na gorsze rokowanie mierzone okresem przeżyć wolnych od zdarzeń u pacjentów z wysokim poziomem ekspresji SOX4 w porównaniu do chorych z niską ekspresją. W mojej opinii rola SOX4, jako obiecującego czynnika rokowniczego w ALL u dzieci pozostaje niewyjaśniona i zasługuje na dalsze rozpoznanie.

W rozdziale „Dyskusja” Doktorantka omawia własne wyniki i umiejętnie odnosi się do danych z piśmiennictwa. Nie ma wiele prac dotyczących SOX4 w

kontekście schorzeń hematologicznych, mimo tego Doktorantka celnie interpretuje doniesienia dotyczące badań nad rolą czynnika transkrypcyjnego SOX4 w różnych chorobach nowotworowych doszukując się analogii do własnego materiału. Krytycznie odnosi się do uzyskanych wyników. W dyskusji dojrzałe i z dociekliwością analizuje czynniki, które mogłyby wpłynąć na jej wyniki. Brak znamiennej statystycznej korelacji między SOX4 a wybranymi czynnikami klinicznymi dopatruje się w małej liczbie przebadanych pacjentów. Ta opinia Autorki nie budzi zastrzeżeń. Zrozumiałe jest, że w tzw. chorobach rzadkich, trudno jest zgromadzić dużą liczebnie, jednorodną grupę pacjentów tak pod względem rozpoznania, cech klinicznych jak i leczenia. Uważam, że przeprowadzone badania u 74 pacjentów są wystarczające chociażby do wskazania drogi dalszego rozwoju oraz służyć w poszukiwaniu ulepszonych metod diagnostycznych, co w konsekwencji powinno skutkować poprawą wyników leczenia.

Podsumowującą częścią pracy są trzy wnioski, w których Autorka zwięźle odnosi się do uzyskanych wyników.

Mam uwagę, co do pierwszego wniosku pt „Poziom ekspresji SOX4 w komórkach blastycznych nie może być uznany za jeden z markerów prognostycznych w białaczce limfoblastycznej u dzieci, gdyż nie koreluje z czynnikami aktualnie uznawanymi za czynniki rokownicze”.

Proponuję w zdaniu zawrzeć sformułowanie „na dzień dzisiejszy” lub „obecnie” ponieważ nie zawsze negatywne wyniki wykluczają rolę badanego parametru. Tym bardziej, że prowadzone są badania nad bezpośrednią regulacją transkrypcji Ikarosa przez SOX4.

Stwierdzam, że przedstawiona do recenzji praca jest pionierska w Polsce i na świecie. Według mojej wiedzy nikt do tej pory tak metodologicznie nie przeprowadził badań u dzieci z ALL. Praca stanowi wkład do rozwoju wiedzy na temat roli czynnika transkrypcyjnego SOX4 w hematologii.

Brak wykazania korelacji między SOX 4 a wybranymi czynnikami klinicznymi w ALL u dzieci do końca nie przekreśla jego roli a wyniki badań Doktorantki mogą stanowić bazę do dalszych badań w ALL u dzieci.

Należy również podkreślić, że praca została napisana z dużym zaangażowaniem i pasją, jest świetnie zredagowana i czyta się ją z przyjemnością. Świadczy to o dużej wiedzy i dojrzałości naukowej Autorki.

Pracę oceniam wysoko i nie mam żadnych merytorycznych uwag.

Z obowiązku recenzenta pracy przedstawiam bardzo mało istotne uwagi redakcyjne. W rozdziale z piśmiennictwem brak roku przy publikacji nr.31 i 35.

Podsumowanie.

Uważam, że Autorka wykazała się umiejętnością przeprowadzenia samodzielnie pracy naukowej.

Przedstawiona do recenzji praca spełnia wymogi przewidziane w art. 13 ust. 1 ustawy z dn. 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym.

Wobec powyższego, mam zaszczyt przedstawić wniosek do Wysokiej Rady Naukowej Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego o dopuszczenie lek. med. Karoliny Gawle-Krawczyk do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Jednocześnie wnioskuję o wyróżnienie pracy. Dysertacja spełnia kryteria nowatorstwa (inkorporacja nowoczesnych badań molekularnych do diagnostyki ostrej białaczki limfoblastycznej) a także stanowi wkład w rozwój dziecięcej hematologii.

Dr hab. n med. Bożenna Dembowska-Bagińska, prof. IPCZD

Kierownik Kliniki Onkologii Instytutu „Pomnik Centrum Zdrowia Dziecka”



