

Katedra i Klinika
Neurologii Dziecięcej
SUM w Katowicach

40-752 Katowice,
ul. Medyków 16

Kierownik Kliniki
dr hab. n. med. Justyna Paprocka
Profesor Śląskiego Uniwersytetu
Medycznego
tel.: (+48 32) 207-16-01

SEKRETARIAT

tel.: (+48 32) 207-16-00

fax: (+48 32) 207-16-15
neurdziec@sum.edu.pl

Recenzja

**Rozprawy na stopień doktora nauk medycznych i nauk o zdrowiu w
dyscyplinie nauki medyczne lek. med. Michała Błocha**

pt. „Rola czynników epigenetycznych w etiopatogenezie atrezji przełyku”

Wrodzone zarośnięcie przełyku występuje z częstością 1:4100 urodzonych noworodków, w ciążyach bliźniaczych na poziomie 1:750 porodów bliźniaczych. Etiologia wady jest wieloczynnikowa, do tej pory dokładnie niepoznana. Przetoka tchawiczo-przełykowa towarzyszy atrezji przełyku w około w 86% przypadków. W 50% przypadków atrezja przełyku to wada izolowana. Brak jednoznacznego i definitywnego czynnika genetycznego związanego z etiopatogenezą atrezji przełyku uzasadnia poszukiwanie epigenetycznych przyczyn ekspresji genów, do których należy między innymi metylacja DNA.

Omówienie rozprawy doktorskiej

Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska zatytułowana: „Rola czynników epigenetycznych w etiopatogenezie atrezji przełyku” została przygotowana pod kierunkiem promotora Pana Profesora Roberta Śmigła z Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu. Badania zostały wykonane w ramach grantu Narodowego Centrum Nauki nr 2016/21/N/NZ5/01927 realizowanego w latach 2017-2021 w konkursie PRELUDIUM 11. Celem dyzertacji była ocena genomowych profili metylacji DNA poprzez jakościowe i ilościowe porównanie stopnia metylacji całego genomu i poszczególnych genów w tkankach pobranych od par bliźniąt (jednego urodzonego z atrezją przełyku i drugiego zdrowego bez wady wrodzonej przełyku). Doktorant postawił przed sobą także celem szczegółowe związane z oceną przydatności techniki RRBS, oceny zróżnicowania tkankowego i narządowego wzoru metylacji jako możliwego czynnika etiologicznego wad wrodzonych na przykładzie atrezji przełyku.



Katedra i Klinika
Neurologii Dziecięcej
SUM w Katowicach

40-752 Katowice,
ul. Medyków 16

Kierownik Kliniki
dr hab. n. med. Justyna Paprocka
Profesor Śląskiego Uniwersytetu
Medycznego
tel.: (+48 32) 207-16-01

SEKRETARIAT

tel.: (+48 32) 207-16-00

fax: (+48 32) 207-16-15
neurdziec@sum.edu.pl

Praca została podzielona na tradycyjne elementy obejmujące: wstęp pracy, cel pracy, materiał i metody, wyniki, dyskusję, wnioski, streszczenie pracy w języku polskim i w języku angielskim, spis rycin, spis tabel, bibliografię, 3 załączniki zawierające opinię komisji bioetycznej, dorobek naukowy i życiorys.

Temat pracy doktorskiej jest nowatorski, uwzględnia najnowsze, bardzo interesujące informacje na temat metylomu. Jednak opisywana grupa badawcza jest bardzo mała, co wynika, jak Doktorant sam wyjaśnia, z napotkanych trudności technicznych i organizacyjnych.

We *Wstępie* Doktorant dokładnie przedstawia zagadnienie atrezji przetyku w aspekcie klasyfikacji, epidemiologii, patomechanizmu, występowania wad towarzyszących oraz opisuje znaczenie czynników środowiskowych i genetycznych. Wstęp przedstawiony w syntetycznej formie dowodzi szerokiej wiedzy teoretycznej, zdolności analizy porównawczej. Szczególne zainteresowanie wzbudza fragment poświęcony metylomowi i jego sugerowanym tkankowo-specyficznym właściwościom dla poszczególnych linii komórkowych różnicujących się w okresie embrionalnym. W tabeli I zawarto geny kandydackie, wskazane jako patogenne w zespołach i chorobach genetycznych, w obrazie których pojawia się atrezja przetyku.

W rozdziale: *Materiał i metody*, po rekrutacji grupy kontrolnej (6 par bliźniąt wyłonionych wśród pacjentów Kliniki Chirurgii i Urologii Dziecięcej Uniwersyteckiego Szpitala Klinicznego we Wrocławiu i Kliniki Chirurgii, Traumatologii i Urologii Dziecięcej Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu) opisano kolejne etapy pracy doktorskiej jako pobranie i zabezpieczenie materiału biologicznego, izolację DNA, badania z użyciem technik molekularnych: określenie zygotywności bliźniąt, badanie aCGH, RRBS oraz analizę statystyczną.

W części dyzertacji, poświęconej *Wynikom*, w pierwszym etapie, badania zygotywności bliźniąt wykazały, iż 3 pary to bliźnięta monozygotyczne (nr 2,4,5), trzy pary to bliźnięta heterozygotyczne (nr 1,3,6). Następnie, kolejne analizy przeprowadzone przy użyciu techniki aCGH nie zaprezentowały zmian patogennych, tym samym wykluczając aberracje liczbowe i strukturalne. Analiza wzbogaceń ścieżek molekularnych wykazała znaczącą statystycznie różnicę dotyczącą hipermetylacji genów biorących udział w ścieżce molekularnej Rho GTPase w grupie bliźniąt z atrezią przetyku (*ARHGAP36, ARHGAP4, ARHGAP6, ARHGEF6, ARHGEP9, FGD1, GD11, MCF2, OCRL, STARD8*). Drugim bardzo ważnym wnioskiem wynikającym z badań prowadzonych przez Doktoranta jest brak istotnych różnic w zakresie

Katedra i Klinika
Neurologii Dziecięcej
SUM w Katowicach

40-752 Katowice,
ul. Medyków 16

Kierownik Kliniki
dr hab. n. med. Justyna Paprocka
Profesor Śląskiego Uniwersytetu
Medycznego
tel.: (+48 32) 207-16-01

SEKRETARIAT

tel.: (+48 32)207-16-00

fax: (+48 32) 207-16-15
neurdziec@sum.edu.pl

metylacji znanych genów mogących odpowiadać za etiologię atrezji przełyku. Efekty powyższych analiz zostały w sposób bardzo przejrzysty zaprezentowane w formie opisowej, pod postacią rycin i tabel.

Bibliografia zawiera 170 pozycji piśmiennictwa, z ostatnich 5 lat to 50 publikacji.

Dorobek naukowy lek. med. Michała Błocha stanowi współautorstwo 8 prac (w jednej z nich jest pierwszym autorem) oraz współautorstwo 4 rozdziałów w książkach. Wartość współczynnik oddziaływania IF dla opublikowanych prac wynosi łącznie 14,144 punktów, wartość w punktacji Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego to 448 punktów.

Podsumowanie i uwagi recenzenta

Podjęcie tematu pt. „Rola czynników epigenetycznych w etiopatogenezie atrezji przełyku”

jako pracy doktorskiej jest bardzo istotne, ponieważ obecnie przyczynę powstawania danego zespołu obejmującego zarośnięcie przełyku można ustalić jedynie w około 10% przypadków.

Dyzertacja została opracowana w trybie prezentacji monotematycznej pracy doktorskiej. Grupa badania jest mała, obejmuje jedynie 6 par bliźniąt. Analizując kryteria kwalifikujące do grupy badanej, jej poszerzenie pod względem liczebnym wydaje się być bardzo trudne. Szczególnie, wykluczenie pacjentów z towarzyszącymi wadami rozwojowymi oraz z cechami dysmorfii, wstępnie limituje wielkość grupy badanej. Z drugiej strony należy poczytać to jako atut pracy, powodujący, że badania grupa jest bardziej homogenna i lepiej scharakteryzowana.

Doktorant wykazał się bardzo dojrzałym i kompetentnym podejściem do postawionych i ambitnych i nowatorskich celów badawczych, prawidłowo przeprowadzając proces analizy naukowej i dokumentując go zgodnie z przyjętymi zasadami. Doktorat trafnie i interesująco porównuje swoje własne spostrzeżenia z wynikami innych autorów. Analiza porównawcza profili metylacji wysp CpG pacjentów z atrezią przełyku oraz zdrowego rodzeństwa wykazała hipermetylację 249 wysp CpG w promotorach 227 genów oraz hipometylację 81 wysp CpG w promotorach 79 genów. Powyższe dane wskazują na znaczenie techniki RRBS i jej udział w detekcji 10 dotychczas nieopisywanych genów w patogenezie atrezji przełyku. Jest to



Śląski Uniwersytet
Medyczny w Katowicach

**Katedra i Klinika
Neurologii Dziecięcej
SUM w Katowicach**

40-752 Katowice,
ul. Medyków 16

Kierownik Kliniki
dr hab. n. med. Justyna Paprocka
Profesor Śląskiego Uniwersytetu
Medycznego
tel.: (+48 32) 207-16-01

SEKRETARIAT

tel.: (+48 32)207-16-00

fax: (+48 32) 207-16-15
neurdziec@sum.edu.pl

niewątpliwie wstęp do dalszych badań, które powinny dalej być kontynuowane.

Rozprawa doktorska spełnia warunki określone w art. 13 ust. 1 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. 595, z późn. zm.) i w związku z powyższym przedkładam Wysokiej Radzie Dyscypliny Nauk Medycznych Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu wniosek o dopuszczenie lek. med. Michała Błocha do dalszych etapów postępowania o nadanie stopnia doktora nauk medycznych i nauk o zdrowie w dyscyplinie nauki medyczne.

Z poważaniem