

## RECENZJA

**rozprawy doktorskiej mgr Magdaleny Kłaniewskiej**  
**„Analiza kliniczna i genotypowa dzieci z wrodzonym zarośnięciem przełyku urodzonych**  
**w latach 2000-2020”**

Zgodnie z uchwałą Rady Dyscypliny Nauki o Zdrowiu Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu z dnia 30.08.2024r. o powołaniu mnie na recenzenta wyżej wymienionej rozprawy doktorskiej mam zaszczyt przedstawić poniższą opinię.

Oceny dokonano na podstawie przedstawionej do recenzji rozprawy doktorskiej w formie monografii. Recenzowany materiał analizowano w zakresie wartości celu badawczego, poprawności metodycznej, redakcji przedłożonej pracy, znaczenia klinicznego i praktycznego wniosków wynikających z przeprowadzonych analiz.

Wrodzone zarośnięcie przełyku jest wadą rozwojową stanowiącą od lat wyzwanie dla chirurgów dziecięcych. W ostatnich dekadach dzięki poprawie technik operacyjnych oraz opieki okołoperacyjnej przeżywalność pacjentów objętych wadą uległa znacznej poprawie. Blisko 50% przypadków wrodzonego zarośnięcia przełyku obarczonych jest dodatkowymi wadami, a 29% wadami układu sercowo-naczyniowego, które znacznie pogarszają rokowanie. Jednak u pacjentów bez wad współistniejących przeżywalność sięga 90-95%. Etiopatogeneza wady jest nadal nieznana. W związku z dynamicznym rozwojem badań genetycznych pojawia się coraz więcej doniesień próbujących wyjaśnić genetyczne podłoże wady.

W związku z powyższymi uwagami należy uznać, że Doktorantka podejmuje w swojej dysertacji istotny, niezwykle nowatorski, ciekawy i ważny praktycznie temat.

Przedstawiona do recenzji praca doktorska stanowi oprawiony maszynopis liczący 117 stron, w tym 91 stron stanowi tekst właściwy ze streszczeniami, 2 spis treści, 1 wykaz skrótów 4 spis tabel i rycin, 12 piśmiennictwo i 5 załączniki. Dokumentacja w tekście właściwym obejmuje 45 tabel, 12 wykresów i 1 rycinę. Piśmiennictwo złożone jest z 143 pozycji głównie zagranicznych. Jedynie 9 pozycje (6,3%) prezentuje dorobek rodzimy. Podsumowując część edycyjną monografii należy podkreślić jej bardzo dobrą formę i poprawną oprawę graficzną.



W obszernym rozdziale zatytułowanym *Wstęp* Doktorantka ciekawie przedstawiła anatomię, histologię, embriologię i fizjologię przełyku. W dalszej części tego rozdziału szczegółowo omówiła historyczne i aktualne klasyfikacje zarośnięcia przełyku, wady towarzyszące, epidemiologię, koncepcje etiopatogenezy oraz diagnostykę pre- i postnatalną wrodzonego zarośnięcia przełyku. W końcowej części tego rozdziału Doktorantka skupiła się na szczegółowym omówieniu zespołów genetycznych związanych z występowaniem wrodzonego zarośnięcia przełyku co ma istotne znaczenie w kontekście tematu pracy i wyznaczonych celów. Ta część rozprawy doktorskiej stanowi bardzo dobre wprowadzenie w zagadnienie i dowodzi dobrego przygotowania teoretycznego Doktorantki do realizacji zaplanowanych badań.

Cel pracy został odpowiednio określony jest jasny i sprecyzowany. Głównym celem pracy była analiza danych klinicznych i genotypowych pacjentów dotkniętych wrodzonym zarośnięciem przełyku oraz zidentyfikowanie korelacji pomiędzy zebranymi danymi na przestrzeni minionych dwudziestu lat.

Doktorantka wyznaczyła również cele dodatkowe:

- wykazanie korelacji genotypowo-fenotypowej u pacjentów z wrodzonym zarośnięciem przełyku współistniejącym z asocjacją VACTERL/VATER
- próba odnalezienia genetycznej przyczyny lub punktów stycznych występowania wrodzonego zarośnięcia przełyku u pacjentów z asocjacją VACTERL/VATER

Materiał badany stanowiła grupa 287 pacjentów z wrodzonym zarośnięciem przełyku urodzonych i leczonych w latach 2001-2020. Z grupy tej wydzielono podgrupę 23 pacjentów z asocjacją VATER podlegająca dalszym dodatkowym badaniom genetycznym.

W metodyce kandydatka wydzieliła poszczególne etapy badania, co moim zdaniem, wpływa na jej przejrzystość i znacznie ułatwia zrozumienie (zwłaszcza etapu IV):

I etap - praca z archiwalną dokumentacją medyczną

II etap - wyłonienie podgrupy pacjentów z asocjacją VATER

III etap - zebranie materiału biologicznego do badań genetycznych

IV etap - przeprowadzenie badań WES (Whole Exome Sequencing) metodą NGS

V etap – analiza statystyczna

W pierwszej części rozdziału *Wyniki* Autorka bardzo dokładnie przedstawia charakterystykę grupy badanej z uwzględnieniem analizy statystycznej. Dokonuje analizy wieku urodzeniowego i masy urodzeniowej, typu zarośnięcia przełyku, wad współistniejących. Dla mnie jako chirurga dziecięcego szczególnie istotna i cenna jest analiza typów wrodzonego

zarośnięcia przełyku z wydzieleniem grupy zarośnięć długoodcinkowych (typ A i B) oraz analiza wieloetapowego leczenia tego typu wady.

W dalszej części Doktorantka przedstawia wyniki analizy i korelacji danych klinicznych badanej grupy. Nie dziwi w uzyskanych wynikach korelacja i istotność statystyczna pomiędzy wiekiem urodzeniowym i masą urodzeniową a występowaniem wad towarzyszących oraz korelacja i istotność statystyczna pomiędzy masą urodzeniową i wadami współistniejącymi a wystąpieniem zgonu. Bardzo ciekawa jest analiza korelacji współistniejących wad genetycznych z typem zarośnięcia przełyku (tabela 32) gdzie istotność statystyczną ( $p=0,028$ ) wykazano jedynie w zespole Downa.

Kolejna część rozdziału *Wyniki* To charakterystyka genotypowa podgrupy pacjentów z asocjacją VATER. Pomimo, że nie jestem ekspertem w tej dziedzinie z dużym zainteresowaniem prześledziłem tą część wyników. Należy podkreślić ogrom pracy Doktorantki i przeanalizowanie 6627 wariantów w 114 genach z wykorzystaniem nowoczesnej technologii NGS (*Next-generation Sequencing*). Ta nowatorska metoda pozwala sekwencjonować DNA i RNA z określeniem całego eksomu, czyli eksonów wszystkich genów (*Whole Exome Sequencing – WES*) oraz wykrywać warianty/mutacji całego genomu (*Whole Genome Sequencing – WGS*). Pomimo braku jasno określonej korelacji defektu genetycznego z występowaniem wrodzonego zarośnięcia przełyku wytypowanie 54 genów i zidentyfikowanie 128 wariantów o niepewnym znaczeniu, potencjalnie patogennych oraz patogennych daje perspektywę dalszych badań i utworzenia bibliotek genetycznych. Daje też nadzieję na znalezienie genetycznych przyczyn wrodzonego zarośnięcia przełyku.

Ciekawym punktem przedstawionym w rozdziale *Wyniki* jest również analiza wpływu wybranych zmiennych na zgon pacjenta z wrodzonym zarośnięciem przełyku. Jeżeli nie dziwi fakt, że niska masa urodzeniowa, niski wiek urodzeniowy oraz rodzaj współistniejącej wady mają wpływ na ryzyko zgonu to płęć już tak.

Uzyskane wyniki poddano analizie statystycznej z wykorzystaniem odpowiednio dobranych testów. Do obliczeń statystycznych użyto programu STATISTICA 13.1 (TIBICO Inc., USA).

W rozdziale zatytułowanym *Dyskusja*, Doktorantka przeprowadza bardzo sprawną i rzeczową dyskusję odnosząc swoje wyniki głównie do literatury światowej. Biegłość i swoboda dyskusji oraz analizy porównawczej świadczy o dużym doświadczeniu zawodowym i naukowym mgr Magdaleny Kłaniewskiej. Mnie, chirurga dziecięcego, niezmiernie cieszy fakt podkreślenia w dyskusji roli Prof. Dariusza Patkowskiego w rozwoju torakoskopowej techniki operacyjnej wrodzonego zarośnięcia przełyku. Z dużym zainteresowaniem przeczytałem



również obszerną i bardzo ciekawą część dyskusji dotyczącą próby wyjaśnienia etiopatogenezy asocjacji VATER/VACTERL ze szczególnym uwzględnieniem roli zmian genetycznych.

Wykorzystane w dysertacji piśmiennictwo, jest aktualne, dobrze dobrane i poprawnie cytowane w tekście.

Dysertację kończy 6 jasno sprecyzowanych wniosków. Odpowiadają one na pytania zawarte w celach pracy. Przedstawione wnioski mają duże znaczenie praktyczne i rokują prowadzenie dalszych badań. Zwłaszcza wniosek 2 i 6 budzi nadzieję na kontynuację badań w kierunku znalezienia genetycznej przyczyny wady lub genetycznego wpływu na jej typ i współwystępowanie innych wad towarzyszących.

Zarówno streszczenie w języku polskim jak i angielskim są dobrze zredagowane z zachowaniem typowego podziału na odpowiednie elementy.

Jako recenzent powołany do oceny rozprawy doktorskiej mgr Magdaleny Kłaniewskiej pozwolę sobie na 3 drobne uwagi korygujące:

1. Brak wyszczególnionych „założeń pracy”. W rozdziale *Cel Pracy* zawarte jest jedynie zdanie „*Założeniem pracy było również poszerzenie wiedzy o jednostce chorobowej jaką jest wrodzone zarośnięcie przełyku*”.
2. Nie bardzo mogę się pogodzić lub „przyzwyczać” do cytowania piśmiennictwa nazwiskami autorów prac z piśmiennictwa a nie numerami. Możliwe, że takie są aktualne wymogi edycyjne rozpraw doktorskich obowiązujące w Uniwersytecie Medycznym im. Piastów Śląskich we Wrocławiu.
3. W poszczególnych tabelach widnieje zmienna liczba „n” przy grupie badanej składającej się z n-287 pacjentów. Domniemam, że wynika to z braku posiadanych danych. Aspekt ten powinien być wyjaśniony w tekście rozprawy. Razi to zwłaszcza w tabeli nr 11 gdzie operowanych pacjentów z typem zarośnięcia A lub B było 48 a w etapach operacji ujętych jest jedynie 34 (co z pozostałymi 14?) oraz w tabeli 13 gdzie przedstawiony jest typ zarośnięcia u 276 (co z pozostałymi 11?).

Powyższe uwagi nie umniejszają wartości merytorycznej ocenianej dysertacji. Nie wpływają również na docenienie wykonanej i przeprowadzonej przez Doktorantkę pracy opartej na wielokierunkowej analizie klinicznej pacjentów oraz wielokierunkowych badaniach genetycznych. Są jedynie wskazówkami na dalszą drogę rozwoju naukowego Kandydatki i przygotowanie prac do publikacji.

W podsumowaniu stwierdzam, że Doktorantka wykazała się umiejętnością wyboru aktualnego zagadnienia naukowego, dobrał właściwą metodykę pracy a wnioski zredagował w oparciu o rzetelne wyniki.



Należy również podkreślić znaczący dorobek naukowy mgr Magdaleny Kłaniewskiej z wskaźnikiem oddziaływania Impact Factor - 32,04 oraz sumaryczną punktacją MEiN – 998 co ma niebagatelny wpływ na ocenę Doktorantki i ubieganie się o tytuł doktora nauk medycznych i nauk o zdrowiu.

Rozprawa doktorska mgr Magdaleny Kłaniewskiej pt.: „*Analiza kliniczna i genotypowa dzieci z wrodzonym zarośnięciem przełyku urodzonych w latach 2000-2020*” spełnia 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. 595 z późn.zm.) oraz warunki określone w art. 187 ustawy prawa o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2018r. poz. 1668 z późn.zm.).

Mam zatem zaszczyt przedłożyć Radzie Dyscypliny Nauki o Zdrowiu Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu wniosek o dopuszczenie mgr Magdaleny Kłaniewskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Jednocześnie biorąc pod uwagę nowatorski charakter przeprowadzonych badań, wartość uzyskanych wyników dla próby określenia genetycznej etiopatogenezy wrodzonego zarośnięcia przełyku oraz znaczący dorobek naukowy Doktorantki wnoszę o wyróżnienie i nagrodzenie opiniowanej pracy.

Dr hab.n.med Wojciech Korlacki

