



Instytut „Centrum Zdrowia Matki Polki”

Zakład Genetyki

93-338 Łódź; ul. Rzgowska 281/289

tel.: (0-42) 271-12-71; genetyka@iczmp.edu.pl

Kierownik: Dr hab. n. med. Agnieszka Gach, profesor instytutu

Łódź, 18.11.2024

**Recenzja rozprawy na stopień doktora nauk medycznych i nauk o zdrowiu
mgr Magdaleny Kłaniewskiej**

**p.t. „Analiza kliniczna i genotypowa dzieci z wrodzonym
zarośnięciem przełyku urodzonych w latach 2000-2020”**

Promotor: Prof. dr hab. n. med. Robert Śmigiel

Rozprawa mgr Magdaleny Kłaniewskiej poświęcona jest klinicznej oraz genotypowej analizie przypadków wrodzonego zarośnięcia przełyku u dzieci. Temat ten, dotyczący poważnej wady wrodzonej o złożonym podłożu genetycznym i zróżnicowanym obrazie klinicznym, jest wyjątkowo istotny zarówno z naukowego, jak i praktycznego punktu widzenia. Zrozumienie mechanizmów leżących u podstaw tej wady, a także identyfikacja czynników genetycznych, może przyczynić się do poprawy diagnostyki oraz efektywności terapii, a także stanowić cenną bazę wiedzy na potrzeby poradnictwa genetycznego.

Przedstawiona do oceny dysertacja ma typowy dla rozpraw doktorskich układ redakcyjny. Zawiera 117 stron maszynopisu (w tym spis treści, wykaz skrótów, 102 strony tekstu pracy, streszczenia w języku polskim i angielskim). Pracę cechuje tradycyjny podział na wstęp, cele pracy, materiał i metody, wyniki, dyskusję, piśmiennictwo, oraz spis tabel, rycin i wykresów. W pracy umieszczono 53 tabele, 1 rycinę, 12 wykresów oraz 143 pozycje piśmiennictwa. Załączono również podsumowanie dorobku naukowego oraz życiorys Doktorantki. Badania będące podstawą dysertacji uzyskały pozytywną opinię Komisji Bioetycznej przy Uniwersytecie Medycznym we Wrocławiu nr KB 190/2021.

Dysertację otwiera „Wstęp”, w którym Doktorantka szczegółowo przedstawia aktualny stan wiedzy na temat wrodzonego zarośnięcia przełyku, obejmując aspekty anatomii, embriologii, epidemiologii, patofizjologii oraz omawiając znaczenie czynników genetycznych i środowiskowych. W tej części rozprawy Doktorantka zawarła ciekawie napisany rys historyczny, ale także informacje o współczesnych metodach korekcji wady. Co ważne, odniosła się również do możliwości identyfikacji wady na etapie prenatalnym co, między innymi poprzez wybór właściwego ośrodka referencyjnego do porodu i opieki perinatalnej, może znakomicie przyczynić się do poprawy rokowania pacjentów z wrodzonym

zarośnięciem przełyku. W dalszej części wstępu zostały omówione zespoły genetyczne związane z występowaniem wrodzonego zarośnięcia przełyku. Tu Doktorantka dokonała zrozumiałego podziału na liczbowe i strukturalne aberracje chromosomowe, zespoły monogenowe oraz poligenowe oraz asocjacje i zespoły o nieznannej etiologii.

W mojej ocenie wprowadzenie stanowi szczegółowe i rzetelne omówienie poruszanych zagadnień w świetle bogatego i aktualnego piśmiennictwa. Autorka w przystępny sposób pozwala czytelnikowi zapoznać się z problematyką, której dotyczy Jej rozprawa naukowa. Wstęp czyta się z przyjemnością, a jego lektura dowodzi, że Doktorantka ma bardzo dobre przygotowanie teoretyczne do realizacji podjętych celów badawczych.

Pani mgr Magdalena Kłaniewska sformułowała dwa podstawowe i dwa dodatkowe cele pracy. Główne cele obejmowały analizę danych klinicznych i genotypowych pacjentów z wrodzonym zarośnięciem przełyku oraz zidentyfikowanie korelacji.

Cele pracy zostały sformułowane w sposób jasny i przejrzysty. Doktorantka założyła analizę danych klinicznych pacjentów urodzonych z tą wadą na przestrzeni 20 lat. Powyższe wskazuje na ambitne podejście Doktorantki i niestandardową dla prac doktorskich skalę podjętej pracy.

W rozdziałach „Materiał i metody” Doktorantka opisuje etapowy charakter badania, w tym pracę z archiwalną dokumentacją medyczną, wyłonienie podgrupy pacjentów z asocjacją VATER, pozyskanie materiału do badań genetycznych, badanie WES, analizę statystyczną. Grupę badaną stanowiło 287 pacjentów z wrodzonym zarośnięciem przełyku. Spośród grupy badanej wyłoniono pacjentów z asocjacją VACTER, następnie do badań WES trio zakwalifikowano 8 rodzin, a do WES solo kolejnych 6 pacjentów. Badanie metodą NGS wykonano w Zakładzie Genetyki Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego.

Rozdział „Materiał i metody” opisuje grupę badaną oraz wykorzystane narzędzia diagnostyczne i metody analizy statystycznej. Autorka korzystała z nowoczesnych technik diagnostycznych, w tym WES, co pozwala na identyfikację rzadkich wariantów genetycznych. Dobór metod jest adekwatny do postawionych celów badawczych.

W pierwszej części rozdziału „Wyniki” Doktorantka dokonała charakterystyki grupy badanej, w tym dane kliniczne analizowane były z podziałem na poszczególne typy zarośnięcia przełyku. Oceniano m. in. zależności między masą urodzeniową i wiekiem urodzeniowym, a liczbą etapów zespolenia. Dalej, Doktorantka analizowała grupę badaną pod kątem wad współistniejących. Dane zostały przedstawione w formie tabel dla poszczególnych układów: sercowo-naczyniowego, nerwowego, moczowo-płciowego, pokarmowego, oddechowego i szkieletowego. Następnym etapem było porównanie i analiza danych klinicznych w poszukiwaniu korelacji między zmiennymi. Zgodnie z dodatkowymi celami pracy scharakteryzowana została podgrupa pacjentów z asocjacją VATER. Tu badanie poszerzono o wyniki badania eksomowego. Wytypowano warianty w 114 genach powiązanych z występowaniem wrodzonego zarośnięcia przełyku. Przeanalizowano łącznie 6627 wariantów. W sekcji wyniki zamieszczono też tabelę z opisem genów powiązanych z występowaniem asocjacji VATER.

Część rozdziału „Wyniki” dotyczy danych klinicznych oceniam wysoko. Autorka w logiczny sposób przedstawiła analizę cech klinicznych w różnych typach zarośnięcia przełyku, a także wpływ współwystępujących wad na badane zmienne. Analiza wyników poparta jest odpowiednią dokumentacją w postaci tabel i wykresów, co ułatwia interpretację zgromadzonych danych.

Część dysertacji poświęcona wynikom badania genetycznego dokumentuje znaczny wkład pracy Doktorantki w analizę i zestawianie wariantów, jednak sposób prezentacji, a w szczególności sposób zapisu wariantów jest niewystarczający i uniemożliwia czytelnikowi ich identyfikację i analizę. Każdy wariant genetyczny zarówno w opracowaniach naukowych, jak i w raportach/wynikach badań genetycznych powinien być zapisany zgodnie z nomenklaturą HGVS (Human Genome Variation Society). Zapis powinien odnosić się do konkretnej sekwencji referencyjnej dla danego genu, powinien zawierać informację, czy jest to wariant na poziomie DNA, czy RNA oraz wskazywać pozycję nukleotydową. Dodatkowo w tabeli prezentującej warianty przydatne byłoby odniesienie się do baz danych poprzez zacytowanie numerów referencyjnych (np. ClinVar, dbSNP), co pozwala na szybkie porównanie i sprawdzenie tego wariantu w kontekście istniejącej wiedzy. Proponuję przed przygotowaniem manuskryptu do publikacji pracy dopracowanie zestawienia wariantów zgodnie z obowiązującą nomenklaturą HGVS. Poza tym nie znalazłam w pracy numerów zgłoszeń czy informacji o zamieszczeniu w ogólnodostępnych bazach typu ClinVar nowych wariantów zidentyfikowanych w ramach recenzowanej pracy badawczej, jak potencjalnie patogenne warianty genu MUC4. Dzielenie się ze środowiskiem naukowym i klinicznym informacjami o nieodnotowanych wcześniej wariantach i ich związku genotypowo-fenotypowym jest podstawą do rozwoju baz danych zmienności genetycznej człowieka. Ma więc wpływ na interpretację wyników u kolejnych pacjentów, czy na coraz bardziej docenianą reanalizę wcześniej wygenerowanych danych. Proszę Doktorantkę o wyjaśnienie, czy takie zgłoszenia zostały wykonane lub są zaplanowane.

W rozdziale „Dyskusja”, obejmującym 11 stron, Autorka przystąpiła do interpretacji uzyskanych rezultatów w odniesieniu do danych z piśmiennictwa. Przytoczyła najistotniejsze publikacje z zakresu etiopatogenezy wrodzonego zarośnięcia przełyku. W pracy i samej dyskusji szczególną uwagę poświęcono badaniom w 23 osobowej grupie pacjentów z asocjacją VATER. Doktorantka zestawiała raportowane w literaturze dane dotyczące związku czynników genetycznych z występowaniem asocjacji, przedyskutowała zidentyfikowane u badanych pacjentów warianty w kontekście znaczenia poszczególnych genów. Korelacja genotypowo-fenotypowa w badanej grupie została także zestawiona w postaci tabeli.

Dyskutując wyniki własnych badań Doktorantka zachowała stosowny krytycyzm i z ostrożnością odniosła je do danych z piśmiennictwa. Przedyskutowane wyniki stanowią cenny wkład w wiedzę o etiopatogenezie wrodzonego zarośnięcia przełyku i po wykonaniu niezbędnych poprawek mają szansę na opublikowanie w dobrym czasopiśmie o wysokim współczynniku oddziaływania (IF).

Uzyskane w toku badań wyniki i ich analiza w oparciu o dane z ogólnodostępnych baz danych i piśmiennictwa były podstawą do przedstawienia przez Doktorantkę sześciu wniosków. *Wnioski zostały sformułowane poprawnie i w całości odpowiadają powziętym do realizacji celom.*

Uzyskane wyniki Doktorantka omówiła w odniesieniu do szerokiego, trafnie dobranego piśmiennictwa, obejmującego łącznie 143 pozycji. Praca została napisana poprawną polszczyzną. Cechuje ją poprawność stylistyczna, składniowa, ortograficzna i interpunkcyjna, co sprawia, że czyta się ją z łatwością. Z obowiązku recenzenta zwracam uwagę na wielokrotnie powtórzone nieprawidłowe użycie słowa „ilość” przy rzeczownikach policzalnych, np. „ilość wariantów” na stronie 66, „ilość pacjentów” na str. 73, choć w języku polskim w takim przypadku zdecydowanie należy użyć słowa „liczba”. W pracy znalazłam też nieliczne błędy interpunkcyjne czy edytorskie, które są nie do uniknięcia przy redakcji tego rodzaju dysertacji. Sposób redakcji tekstu, tabel i rycin uważam za właściwy, a wszelkie drobne uwagi krytyczne zawarte w tym akapicie pozostają bez wpływu na całościową, pozytywną ocenę pracy.

W podsumowaniu stwierdzam, że przedstawiona mi do oceny rozprawa doktorska Pani mgr Magdaleny Kłaniewskiej spełnia wszelkie wymagania stawiane rozprawom na stopień naukowy doktora określone art. 187 u.p.s.w.n. (Dz. U. 2018 poz.1668 ze zm.) i zwracam się do Wysockiej Rady Dyscypliny Nauki o Zdrowiu Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu o dopuszczenie Pani mgr Magdaleny Kłaniewskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

KIEROWNIK ZAKŁADU GENETYKI
Instytutu "Centrum Zdrowia Matki Polki"
Agnieszka Gach
Dr hab. n. med. Agnieszka Gach
profesor instytutu

Dr hab. n. med. Agnieszka Gach, profesor instytutu