



Warszawa 4.03.2022 r.

Recenzja
pracy na stopień doktora
mgr Angeliki Buczyńskiej
pt. „Badania potencjalnych biomarkerów biochemicznych zaburzających
szlaki metaboliczne w trisomii 21 pary chromosomów”

Przedstawiona mi do recenzji praca na stopień doktora składa się z cyklu publikacji obejmującego jedną pracę przeglądową oraz dwie prace oryginalne opublikowane w recenzowanych czasopismach o łącznym Impact Factor = 13,36 i sumarycznej punktacji MNiSW = 380. Promotorką jest dr hab. med. Monika Zbucka-Krętowska, Kierowniczka Zakładu Endokrynologii Ginekologicznej i Ginekologii Wieku Rozwojowego Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku, a promotorką pomocniczą dr n. med. Iwona Sidorkiewicz z Centrum Badań Klinicznych Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku.

Rozprawa w części zasadniczej składa się z cyklu trzech publikacji, zebranych i opatrzonych wprowadzeniem w sposób nie pozostawiający wątpliwości, że cykl stanowi dzieło, które można uznać za dysertację doktorską. Autorka wyodrębniła następujące rozdziały: *Spis treści, Wykaz publikacji stanowiących rozprawę doktorską, Zestawienie publikacji doktoranta, Wykaz skrótów, Wstęp dotyczący tematyki pracy doktorskiej, Omówienie prac składających się na rozprawę doktorską, Cele pracy, Omówienie pracy przeglądowej stanowiącej podsumowanie tematyki poruszanej w rozprawie doktorskiej pt. „Novel approaches in an integrated route of Trisomy 21 evaluation”, Omówienie publikacji oryginalnych: „The Significance of Apolipoprotein E Measurement in the Screening of Fetal Down Syndrome” oraz „Prenatal Screening of Trisomy 21: Could Oxidative Stress Markers Play a Role?”, Materiał, Zgoda Komisji Bioetycznej, Metody, Materiał badany, Oznaczenia laboratoryjne, Analiza statystyczna, Wyniki, Wnioski, Kopie publikacji wchodzących w skład rozprawy doktorskiej, Streszczenie w języku polskim i angielskim oraz Piśmiennictwo zawierające 21 pozycji. Rozprawę zamyka Suplement zawierający Informacje o charakterze udziału współautorów w publikacjach wraz z szacunkowym*



określeniem procentowego wkładu każdego z nich oraz oświadczenia o zgodzie na wykorzystanie publikacji w rozprawie doktorskiej.

We Wstępie Doktorantka używa sformułowania: „badania inwazyjne, takie jak amniopunkcja lub biopsja kosmówki, które charakteryzują się wyższą swoistością niż badania nieinwazyjne”, które jest nieściśle, ponieważ wynik badania inwazyjnego jest zerojedynkowy – jest trisomia lub jej nie ma. Badanie nieinwazyjne natomiast są testami przesiewowymi i tu ocena swoistości jest jak najbardziej zasadna.

Rozprawę otwiera praca przeglądowa, w której Autorka omawia dotychczas stosowane metody przesiewowa i diagnostyczne oraz perspektywy zastosowania tzw metod „omicznych” w świetle dostępnego piśmiennictwa:

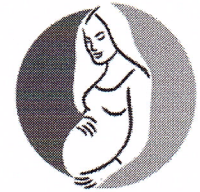
Angelika Buczyńska; Iwona Sidorkiewicz; Anna Trochimiuk; Sławomir Ławicki; Adam Jacek Krętowski; Monika Zbucka-Krętowska: *Novel approaches to an integrated route for Trisomy 21 evaluation*, *Biomolecules*, 2021, 11(9), 1328. Doi: 10.3390/biom11091328

W tej publikacji warto by się jeszcze podjąć próby oceny jak koszty tych metod mogą wpłynąć na perspektywy szerszego zastosowania ich jako metod przesiewowych w kierunku trisomii 21, czy innych aberracji chromosomowych.

Niewłaściwe jest pisanie o NIPT jako metodzie diagnostycznej: „(...) NIPT is not considered as a diagnostic tool in less economically developed countries, and the confirmation of positive results by invasive testing is still required.” NIPT to założenia test przesiewowy i fakt, że wynik pozytywny musi być zweryfikowany badaniem inwazyjnym wyniki z definicji, a nie z kwestii ekonomicznych.

Celem głównym rozprawy doktorskiej było zbadanie potencjalnych wczesnych biomarkerów biochemicznych trisomii 21 pary chromosomów powodujących zaburzenia szlaków metabolicznych. Został on zrealizowany poprzez określenie 3 celów szczegółowych:

1. Ocenę przydatności pomiaru stężenia Apolipoproteiny E, alfa-1-antytrypsyny (A1AT) oraz białka asprosin w diagnostyce przesiewowej T21.



2. Ocenę przydatności pomiaru stężenia wybranych markerów stresu oksydacyjnego: produktów oksydacyjnego rozpadu DNA/RNA, albuminy modyfikowanej niedotlenieniem (IMA), końcowych produktów glikacji (AGE) w diagnostyce przesiewowej T21.
3. Przeprowadzenie analizy w/w markerów w aspekcie patogenezы wystąpienia zaburzeń rozwoju płodu z rozpoznaným zespołem Downa.

Cele realizowano w 2 badaniach, które zaowocowały ukazaniem się 2 publikacji wchodzących w skład Cyklu:

1. Angelika Buczyńska; Iwona Sidorkiewicz; Sławomir Ławicki; Adam Jacek Krętowski; Monika Zbucka-Krętowska *The Significance of Apolipoprotein E Measurement in the Screening of Fetal Down Syndrome*, Journal of Clinical Medicine, 2020, 9(12), 3995. Doi: 10.3390/jcm9123995,

oraz:

2. Angelika Buczyńska; Iwona Sidorkiewicz; Sławomir Ławicki; Adam Jacek Krętowski; Monika Zbucka-Krętowska *Prenatal Screening of Trisomy 21: Could Oxidative Stress Markers Play a Role?* Journal of Clinical Medicine, 2021, 10(11), 2382. Doi: 10.3390/jcm10112382

Badania w sumie przeprowadzono u 40 kobiet w ciąży, u których w wyniku przeprowadzonych wcześniej badań przesiewowych stwierdzono podwyższone ryzyko aneuploidii u płodu i zostały zakwalifikowane do diagnostyki inwazyjnej (amniopunkcji) i standardowej oceny kariotypu. Materiał pobrano w Klinice Rozrodczości i Endokrynologii Ginekologicznej U.M. w Białymstoku.

W wyniku przeprowadzonych badań Autorka, wraz z Zespołem wykazała: „użyteczność diagnostyczną oznaczenia nowych białek w prenatalnych badaniach przesiewowych T21, a osoczowe stężenie białka asprosin, ApoE, IMA, AGE wykazały najwyższe wartości czułości i swoistości”. Doktorantka podkreśla, że „uzyskane wyniki potwierdziły potencjalne zastosowanie markerów stresu oksydacyjnego w badaniach przesiewowych T21. Badanie wybranych białek



obecnych w płynie owodniowym i osoczu ciężarnych z potwierdzoną T21 u płodu dostarczyło informacji na temat występujących zaburzeń szlaków metabolicznych skutkujących powstaniem defektów narządowych u płodu.”

W oparciu o wykonane badania Doktorantka stawia następujący wniosek: „Dodanie powyższych potencjalnych nowych markerów T21 w celu przeprowadzenia kalkulacji ryzyka wystąpienia T21 może umożliwić poprawę wartości diagnostycznych stosowanych dotychczas testów nieinwazyjnych.” To interesująca koncepcja, niemniej jednak, aby sprawdzić użyteczność określonych markerów w skriningu w populacji konieczne jest przeprowadzenia szeroko zakrojonych badań przesiewowych w populacji niskiego ryzyka. Dopiero ocena czułości i swoistości metody w szeroko zakrojonych badaniach w populacji niskiego ryzyka może pozwolić na ocenę rzeczywistej przydatności danej metody w skriningu. W ciągu ostatnich dwudziestu kilku lat zidentyfikowano wiele markerów zarówno biochemicznych jak i ultrasonograficznych, w przypadku których stwierdzono istotne statystycznie różnice pomiędzy płodami z trisomią 21 i prawidłowymi, niemniej jednak nie potwierdzono ich przydatności w badaniach przesiewowych. Natomiast zachęcam Doktorantkę do przeprowadzenia dalszych badań w tym zakresie.

W przyjętym układzie edytorskim, odmiennym od standardowo przyjętego w rozprawach doktorskich, nie zostały wyodrębnione Wnioski odpowiadające w syntetyczny sposób na pytania badawcze postawione w Celach. Nie zamieszczono także osobnego rozdziału pt. Dyskusja, a omówienie wyników, dyskusja i wnioski zawarto w rozdziałach Wyniki i Wnioski. Oczywiście nie jest to wymogiem formalnym ale trzymanie się standardowego planu rozprawy doktorskiej, zdecydowanie ułatwia czytelnikowi jej odbiór i zrozumienie, także w przypadku publikacji składających się z cyklu.

Wszystkie publikacje ukazały się w recenzowanych czasopismach o wysokim IF. Zarówno podejście metodologiczne, jak i zastosowane metody statystyczne nie budzą zastrzeżeń. Po zapoznaniu się z oświadczeniami Współautorów publikacji, stwierdzam, że wkład Doktorantki w ich przygotowanie był znaczny i w pełni zasadne jest wykorzystanie ich jako cyklu tworzącego pracę doktorską.



Klinika Położnictwa, Perinatologii i Ginekologii

Praca doktorska przygotowana przez mgr Angelikę Buczyńską, której dr hab. med. Monika Zbucka-Krętowska, Kierowniczka Zakładu Endokrynologii Ginekologicznej i Ginekologii Wieku Rozwojowego Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku, a promotorką pomocniczą dr n. med. Iwona Sidorkiewicz z Centrum Badań Klinicznych Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku, stanowi samodzielne rozwiązanie postawionego problemu badawczego i potwierdza jej wiedzę teoretyczną w zakresie metodologii badań, których dotyczy. Warta jest podkreślenia potencjalna użyteczność tematyki przeprowadzonych badań we wprowadzaniu tej metody diagnostyki laboratoryjnej do szeroko pojętej diagnostyki prenatalnej, a w szczególności w skriningu w kierunku trisomii 21.

Przedstawiona praca, pod względem merytorycznym spełnia ustawowe warunki, którym powinna odpowiadać praca doktorska, stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego, potwierdza ogólna teoretyczną wiedzę Kandydatki i jej umiejętność samodzielnego prowadzenia pracy naukowej. Spełnia wymogi art. 187. Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. - Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (t.j. Dz.U. z 2021r., poz. 478). Publikacje wchodzące w skład cyklu uzyskały wysoki Impact Factor, co jest niewątpliwym osiągnięciem Doktorantki, przewyższającym wymagania standardowo stawiane Kandydatce do stopnia doktora. Wobec tego pozwalam sobie wystąpić do Wysokiego Senatu Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku, z wnioskiem o wyróżnienie niniejszej rozprawy i dopuszczenie mgr mgr Angeliki Buczyńskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

prof. dr hab. n. med. Piotr Węgrzyn
specjalista położnictwa, ginekologii, perinatologii i genetyki klinicznej
Kierownik Kliniki Położnictwa, Perinatologii i Ginekologii
Wydział Nauk o Zdrowiu
Warszawski Uniwersytet Medyczny