

UNIWERSYTECKIE CENTRUM KLINICZNE
WARSZAWSKIEGO UNIWERSYTETU MEDYCZNEGO
Dziecięcy Szpital Kliniczny
im. Józefa Polikarpa Brudzińskiego w Warszawie



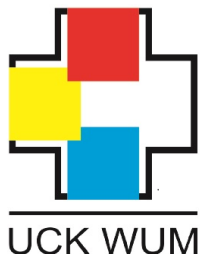
ODDZIAŁ KLINICZNY POŁOŻNICTWA, PERINATOLOGII I
GINEKOLOGII

dr hab. n. med. Przemysław Kosiński
Klinika Położnictwa, Perinatologii i Ginekologii
Warszawski Uniwersytet Medyczny

Ocena rozprawy doktorskiej mgr Angeliki Buczyńskiej:

„Badania potencjalnych biomarkerów biochemicznych zaburzających szlaki metaboliczne w trisomii 21 pary chromosomów”

Ostatnie dekady znacząco odmieniły oblicze diagnostyki prenatalnej. Stało się tak nie tylko za sprawą ogromnego postępu technologicznego w dziedzinie ultrasonografii, genetyki człowieka, analizy DNA, ale także dzięki rozwojowi nowych gałęzi wiedzy jak metabolomika, genomika, czy proteomika. Od opisanego przez francuskiego genetyka Jerome Jean Louis Lejeune trisomii 21. pary chromosomów jako genetycznej przyczyny Zespołu Downa minęło już ponad 60 lat. Od tamtej pory znana jest już medyczna przyczyna fenotypu opisanego właśnie jako Zespół Downa. Przez kolejne lata działania naukowców oraz lekarzy klinicystów skupiały się na stworzeniu optymalnego modelu pozwalającego na możliwie najwcześniejsze i najskuteczniejsze wykrywanie trisomii 21. pary chromosomów przy jednoczesnym zachowaniu możliwie maksymalnego bezpieczeństwa dla pacjentki ciężarnej oraz jej dziecka. Bez wątplenia doniesienia ostatnich lat potwierdzające bezpieczeństwo procedur inwazyjnych oraz minimalne ryzyko związane z koniecznością przeprowadzenia zabiegu amniopunkcji lub biopsji kosmówki wpływają korzystnie na proces podejmowania decyzji na temat zakresu przeprowadzanej diagnostyki prenatalnej. Z drugiej strony w rękach lekarzy oraz pacjentek pojawiło się nowe, ekscytujące narzędzie diagnostyczne, nowa metoda nieinwazyjnej diagnostyki przedurodzeniowej – wolny pozakomórkowy płodowy DNA. Wprowadzenie oceny ryzyka aneuploidii opierającego się na analizie cffDNA już na zawsze odmieniło szeroko rozumiany skrining w kierunku trisomii. Badania przesiewowe opierające się na markerach ultrasonograficznych oraz biochemicznych (tak zwany „test złożony”) oraz badania z wykorzystaniem wolnego płodowego DNA są bardzo skuteczną metodą w ocenie ryzyka trisomii 21 chromosomu. Korzystając z tych niezwykłych osiągnięć medycyny możemy nie tylko bardzo skutecznie wyznaczyć grupę kobiet o wysokim i bardzo wysokim ryzyku trisomii, ale



UNIwersyteckie Centrum Kliniczne
Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego
Dziecięcy Szpital Kliniczny
im. Józefa Polikarpa Brudzińskiego w Warszawie



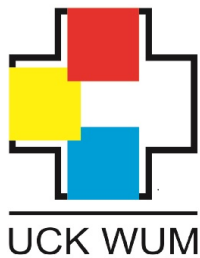
ODDZIAŁ KLINICZNY POŁOŻNICTWA, PERINATOLOGII I
GINEKOLOGII

przede wszystkim ograniczyć zalecenia wykonania diagnostyki inwazyjnej do grup o największym ryzyku aneuploidii. Bez wątplenia spośród ogromnej liczby nieprawidłowości genetycznych, w ocenie cytogenetycznej płynu owodniowego, trisomia jest jedną z najprostszych do rozpoznania wad genetycznych. Wiadomo, że kliniczna manifestacja aberracji chromosomowej w postaci trisomii 21 pary chromosomów jest bardzo zmienna. Połowa dzieci z Zespołem Downa ma wadę serca, tylko niektóre mają wady nerek, a stopień upośledzenia umysłowego jest bardzo zmienny. Wskutek wystąpienia aberracji chromosomowej u płodu dochodzi także do wzrostu stężenia markerów stresu oksydacyjnego oraz wystąpienia zaburzeń w procesach antyoksydacyjnych, odpowiedzialnych za przeciwdziałanie wystąpieniu oksydacyjnych uszkodzeń struktur biologicznych. Reaktywne formy tlenu mogą wiązać się z białkami, lipidami oraz materiałem genetycznym, powodując zniszczenie struktur komórkowych. Najpewniej im większy jest stres oksydacyjny – tym większe uszkodzenie komórek i białek – można się zatem spodziewać także cięższego przebiegu fenotypu choroby.

Wobec aktualnej i istotnej z klinicznego punktu widzenia tematyki, jaką w szerokim pojęciu stanowi wczesny skrining wad genetycznych, badania przeprowadzone przez mgr Angelikę Buczyńską ciekawie wpisują się w dotychczasowe opracowania w tej dziedzinie oraz posiadają duże znaczenie poznawcze. Należy podkreślić, że badania zostały przeprowadzone pod kierunkiem dr hab. n. med. Moniki Zbuckiej – Krętowskiej, która jest autorką wielu bardzo wartościowych publikacji oraz niewątpliwym ekspertem w dziedzinie badań nad metodami omicznymi u płodów z trisomią 21.

Doktorantka jasno wyodrębniła cele szczegółowe swojej Dysertacji i określiła je jako poszukiwanie potencjalnych wczesnych biomarkerów biochemicznych trisomii 21. pary chromosomów powodujących zaburzenia szlaków metabolicznych, a w szczególności:

1. Ocenę przydatności pomiaru stężenia Apolipoproteiny E, alfa-1- antytrypsyny (A1AT) oraz białka asprosin w diagnostyce przesiewowej trisomii 21 chromosomu.
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 trisomii 21 chromosomu.
3. Przeprowadzenie analizy w/w markerów w aspekcie patogenezy wystąpienia zaburzeń rozwoju płodu z rozpoznanyim zespołem Downa.



UNIWERSYTECKIE CENTRUM KLINICZNE
WARSZAWSKIEGO UNIWERSYTETU MEDYCZNEGO
Dziecięcy Szpital Kliniczny
im. Józefa Polikarpa Brudzińskiego w Warszawie



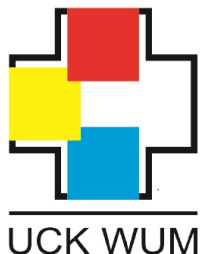
ODDZIAŁ KLINICZNY POŁOŻNICTWA, PERINATOLOGII I
GINEKOLOGII

Rozprawa doktorska mgr Angeliki Buczyńskiej ma formę spójnego tematycznie cyklu trzech artykułów (dwie prace oryginalne oraz jedną pracę pogładową). Należy podkreślić, że we wszystkich publikacjach doktorantka jest pierwszym autorem. Łączna punktacja publikacji włączonych do rozprawy doktorskiej (współczynnik oddziaływania Impact Factor 13.36 oraz 380 punktów Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego). Należy zaznaczyć bardzo wysoką punktację prezentowanych prac, co potwierdza wysoką wartość poznawczą prezentowanych wyników. Każda z prac została poddana krytycznej ocenie recenzentów przed publikacją w czasopiśmie naukowym.

Rozprawa doktorska mgr Angeliki Buczyńskiej liczy 81 stron i ma układ klasyczny dla prac doktorskich w formie cyklu publikacji. Składa się ze: spisu treści, wykazu publikacji składających się na Dysertację, omówienia publikacji wchodzących w skład rozprawy, publikacji wchodzących w skład rozprawy doktorskiej, oświadczeń współautorów, streszczeń w języku polskim i angielskim, piśmiennictwa. Rozprawa napisana jest jasno, pod względem redakcyjnym nie budzi zastrzeżeń.

Uzyskane wyniki oraz dyskusja zostały zawarte w przykładowo napisanych publikacjach, które składają się na rozprawę doktorską mgr Angeliki Buczyńskiej. Pierwsza z prac: „Novel approaches in an integrated route of Trisomy 21 evaluation” jest pracą pogładową i stanowi bardzo wyczerpujący wstęp teoretyczny do podjętego przez Doktorantkę tematu. W manuskrypcie Doktorantka wykorzystała artykuły medyczne opublikowane w latach 2000-2021 i brała pod uwagę wyłącznie publikacje posiadające współczynnik oddziaływania (IF) (mieścił się w granicach 1,14 - 70,67). W publikacji mgr Angelika Buczyńska bardzo szczegółowo i w sposób usystematyzowany ocenia poszczególne markery oraz badania wykonywane w ramach skriningu w kierunku trisomii 21. chromosomu. Doktorantka wysunęła hipotezę badawczą, sugerując, że walidacja wyników z wykorzystaniem metody ELISA umożliwi wykorzystanie zalet wyników uzyskanych metodami omicznymi, zapewniając szybszą detekcję trisomii 21. chromosomu. Niemniej jednak, Doktorantka rozsądnie zasugerowała także potrzebę kontynuacji badań opartych na metodach omicznych w celu poprawy wartości diagnostycznej przeprowadzanych prenatalnych badań przesiewowych. Takie podejście jest dowodem na zrozumienie złożoności problemu oraz naukową postawę Doktorantki.

Dwie kolejne prace z cyklu stanowiącej Dysertację to: „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?” W wyniku przeprowadzonych badań Doktorantka wykazała użyteczność diagnostyczną oznaczenia nowych białek w prenatalnych badaniach



UNIWERSYTECKIE CENTRUM KLINICZNE
WARSZAWSKIEGO UNIWERSYTETU MEDYCZNEGO
Dziecięcy Szpital Kliniczny
im. Józefa Polikarpa Brudzińskiego w Warszawie



ODDZIAŁ KLINICZNY POŁOŻNICTWA, PERINATOLOGII I
GINEKOLOGII

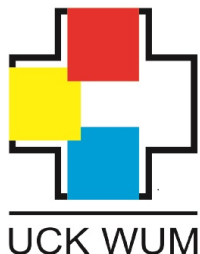
przesiewowych w kierunku trisomii 21. chromosomu. Głównym wnioskiem jest wykazanie najwyższej wartości czułości i swoistości osoczowego stężenie białka asprosin, ApoE, IMA, oraz AGE. Uzyskane wyniki potwierdziły potencjalne zastosowanie markerów stresu oksydacyjnego oraz zaburzeń szlaków metabolicznych mogących skutkować powstaniem defektów narządowych u płodu.

Należy podkreślić, że uzyskane wyniki dostarczyły odpowiedzi na postawione przez Doktorantkę cele szczegółowe, a krytyczna ocena otrzymanych wyników świadczy o dojrzałości naukowej mgr Angeliki Buczyńskiej.

Lektura publikacji wchodzących w skład cyklu nasunęła mi wiele przemyśleń. Z punktu widzenia lekarza zajmującego się na co dzień diagnostyką prenatalną, marzę nie tylko o szybkim i bezpiecznym teście potwierdzającym wadę genetyczną u potomstwa moich pacjentek, ale także o możliwości przekazania informacji na temat oczekiwanego fenotypu nienarodzonego jeszcze dziecka. Przedstawiona mi do oceny Rozprawa Doktorska mgr Angeliki Buczyńskiej, podejmuje temat oceny przydatności wybranych parametrów stresu oksydacyjnego w trisomii 21. pary chromosomów, które mogą okazać się przydatne właśnie w tym zakresie. Pracę przeczytałem z ogromnym zainteresowaniem między innymi ze względu na potencjalnie kliniczny aspekt jej wyników.

Chciałbym także zwrócić uwagę na bardzo rzetelne przygotowanie Dysertacji z punktu widzenia edytorskiego oraz bardzo dobrej jakości tłumaczenie na język angielski – zarówno samych prac stanowiących cykl, ale także samego streszczenia. Pragnę nadmienić także, że w manuskryptach Doktorantka cytuje zwyczajowe 1% ryzyko poronienia związane z wykonaniem procedury inwazyjnej, jaką jest amniopunkcja. Dostępne są jednak nowsze (2019 rok) niż cytowane przez Doktorantkę publikacje, które wykazały znacznie mniejsze ryzyko związane z tą procedurą (Beta, J., W. Zhang, S. Geris, V. Kostiv, and R. Akolekar. "Procedure-Related Risk of Miscarriage Following Chorionic Villus Sampling and Amniocentesis." *Ultrasound Obstet Gynecol* 54, no. 4 (Oct 2019): 452-57 oraz Salomon, L. J., A. Sotiriadis, C. B. Wulff, A. Odibo, and R. Akolekar. "Risk of Miscarriage Following Amniocentesis or Chorionic Villus Sampling: Systematic Review of Literature and Updated Meta-Analysis." *Ultrasound Obstet Gynecol* 54, no. 4 (Oct 2019): 442-51.) W żadnym wymiarze nie umniejsza to wartości merytorycznej Dysertacji.

Przed ostateczną oceną przedstawionej mi do recenzji Dysertacji, chciałbym zwrócić uwagę na całokształt dorobku naukowego Doktorantki. Pomimo młodego wieku jest autorką lub



UNIWERSYTECKIE CENTRUM KLINICZNE
WARSZAWSKIEGO UNIWERSYTETU MEDYCZNEGO
Dziecięcy Szpital Kliniczny
im. Józefa Polikarpa Brudzińskiego w Warszawie



ODDZIAŁ KLINICZNY POŁOŻNICTWA, PERINATOLOGII I
GINEKOLOGII

współautorką wielu prac naukowych o łącznej liczbie współczynnika oddziaływania 42,83 (1220 punktów MEiN). Serdecznie gratuluję Doktorantce i życzę dalszych sukcesów.

Rozprawa doktorska spełnia wszystkie warunki określone w art.187 ustawy z dnia 20.07.2018 Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (t.j. Dz.U. z 2021 poz. 478). Dlatego też, biorąc pod uwagę wysoką wartość merytoryczną rozprawy doktorskiej mgr Angeliki Buczyńskiej wnoszę do Senatu Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku o dopuszczenie mgr Angeliki Buczyńskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego i o jej wyróżnienie.