

GDAŃSKI UNIWERSYTET MEDYCZNY

KATEDRA I KLINIKA PEDIATRII, HEMATOLOGII I ONKOLOGII

80-211 Gdańsk ul. Dębinki 7

Tel. (48-58) 349-28-92

Kierownik Kliniki: dr hab. n. med. Ninela Irga-Jaworska

Fax: (48-58) 349-29-50

e-mail: [ninela.irga-jaworska@gumed.edu.pl](mailto:ninela.irga-jaworska@gumed.edu.pl)

Gdańsk, dnia 1.12.2023

### Recenzja

pracy na stopień doktora nauk medycznych

mgr **Kamili Wypyszczak**

p.t. Poszukiwanie predyspozycji genetycznych do rozwoju ostrej białaczki limfoblastycznej u dzieci

Przedstawiona mi do recenzji rozprawa mgr Kamili Wypyszczak podejmuje niezwykle aktualny temat poszukiwania predyspozycji genetycznych do rozwoju chorób nowotworowych u dzieci. Doktorantka swoje badania prowadziła w Klinice Pediatrii, Onkologii i Hematologii I Katedry Pediatrii Uniwersytetu Medycznego w Łodzi, która to Klinika jest wiodącym ośrodkiem w temacie stanowiącym przedmiot rozprawy.

Praca obejmuje: 81 stron tekstu oraz 233 pozycji cytowanego piśmiennictwa. Układ pracy jest klasyczny i obejmuje następujące części: Wstęp (str. 5-34), Cele pracy (str. 36), Materiał i metody (str.37-43), Wyniki (str. 44-64), Dyskusję (str. 65-81), Wnioski (str. 81). W pracy zawarto również: Spis treści, Wykaz skrótów, Spis rycin (10 pozycji) i tabel (10 pozycji) oraz Streszczenia w języku polskim i angielskim.

W obszernym wstępie Doktorantka niezwykle wnikliwie przedstawia współczesną wiedzę na temat czynników genetycznych, które predysponują do występowania chorób nowotworowych. Przedstawia także fascynującą historię poszukiwań tych predyspozycji zapoczątkowaną w 1969 roku przez Fredericka Li i Josepha Fraumeni. Doktorantka w jasny i przejrzysty sposób omawia istotę transformacji nowotworowej jako wieloetapowego procesu będącego wypadkową interakcji predyspozycji genetycznej do nowotworzenia, jak i działania czynników środowiskowych, generujących nieprawidłowości w genomie somatycznym. Słusznie podkreśla, że w przypadku pacjentów pediatrycznych czynniki środowiskowe odgrywają mniejszą rolę w promowaniu onkogenezy w stosunku do pacjentów dorosłych, u których ekspozycja na kancerogeny bywa silnie powiązana z zachorowaniem na określone typy nowotworów.

Badania prowadzone u pacjentów pediatrycznych z chorobą nowotworową wskazują, że około 10% spośród nich jest nosicielami patogennego bądź potencjalnie patogennego wariantu genetycznego warunkującego zachorowanie. Szacuje się jednak, że tylko ok 3-4% pacjentów pediatrycznych z ostrą białaczką limfoblastyczną (ALL – *ang. acute lymphoblastic leukemia*) rozwija nowotwór na tle predyspozycji genetycznej. Statystyki te mogą być jednak zaniżone z uwagi na niedoszacowanie przypadków związanych z brakiem badań całogenomowych, występowaniem niskiego mozaicyzmu czy zmianami epigenetycznymi. W dalszej części wstępu Doktorantka wskazuje przesłanki kliniczne, które powinny skłaniać do poszukiwania predyspozycji do nowotworzenia, przedstawia także zespoły genetyczne, w których ryzyko rozwinięcia choroby genetycznej jest jedną z definiujących je cech fenotypowych.

Za bardzo cenną część wstępu uznaję fragment, w którym Autorka dysertacji wyjaśnia, dlaczego identyfikacja genetycznej predyspozycji do nowotworzenia może przyczynić się do poprawy opieki onkologicznej nad pacjentem pediatrycznym. Wg Doktorantki dzieje się tak m. in. poprzez dostosowanie terapii (unikanie strategii szczególnie ryzykownych w tej grupie chorych, jak np. radioterapii), leczenie chorób współistniejących, stosowanie odpowiedniego nadzoru onkologicznego po zakończeniu leczenia pierwotnego rozpoznania, poradnictwo genetyczne i opiekę psychologiczną dla członków rodziny obciążonym określonym defektem genetycznym. W celu ułatwienia onkologom dziecięcym identyfikacji pacjentów, którzy wymagają poradnictwa z powodu podwyższonego ryzyka wrodzonej predyspozycji do nowotworzenia stworzono specjalne aplikacje komputerowe, np. algorytm MIPOGG oraz kwestionariusze kliniczne ułatwiające identyfikację dzieci, u których można rozważyć ocenę predyspozycji do nowotworzenia.

W dalszej części wstępu Doktorantka przedstawia informacje dotyczące ostrej białaczki limfoblastycznej u dzieci, omawia epidemiologię, podaje współczesną klasyfikację ALL, kryteria stratyfikacji pacjentów do odpowiednich grup ryzyka, a także czynniki ryzyka niepowodzeń terapeutycznych. Szczególnie wnikliwie przedstawiona jest problematyka dotycząca aberracji genomowych oraz ich znaczenia klinicznego u dzieci z ALL.

Zasadniczą część wstępu stanowią podrozdziały dotyczące sposobów dziedziczenia wrodzonych predyspozycji do zachorowania na ostrą białaczkę limfoblastyczną. Autorka szczegółowo omawia zespoły genetyczne predysponujące od dziecięcej ALL. Równocześnie słusznie zaznacza, że na faktyczną kliniczną manifestację predyspozycji do nowotworzenia wpływa stopień penetracji wariantu oraz jego ekspresja.

Za bardzo cenny uważam fragment, w którym Doktorantka podkreśla, jak istotny jest właściwie pozyskany materiał konstytucyjny, z którego wykonywane są badania. Za najbardziej reprezentatywny uznaje tkankę/komórki wywodzące się z innego listka zarodkowego celem potwierdzenia germinalnego pochodzenia i wykluczenia możliwości występowania mozaiki. Podsumowując, wstęp stanowi świetne, obszerne wprowadzenie do dalszych części dysertacji, w pełni uzasadniając postawione przez Doktorantkę ambitne cele, które zostały sformułowane jasno i precyzyjnie.

Celem nadrzędnym pracy była identyfikacja konstytucjonalnych defektów genetycznych predysponujących do rozwoju dziecięcej ostrej białaczki limfoblastycznej. Dodatkowo Autorka sformułowała dwa cele szczegółowe: poszukiwanie mutacji germinalnych w grupie dzieci chorujących na ostrą białaczkę limfoblastyczną i spełniających kryteria kliniczne wysokiego ryzyka predyspozycji genetycznej oraz ocenę przydatności weryfikowanych wariantów patogennych w materiale somatycznym w identyfikacji wrodzonej predyspozycji do nowotworzenia.

Na prowadzone badania Doktorantka uzyskała zgodę Komisji Etycznej Uniwersytetu Medycznego w Łodzi nr: RNN/183/10/KE. Uzyskano świadomą zgodę wszystkich uczestników badania lub/i ich opiekunów prawnych.

Badaniem objęto 42 pacjentów leczonych z powodu ostrej białaczki limfoblastycznej, którzy spełniali jedno z trzech kryteriów: występowanie ALL w wieku pediatrycznym oraz drugiego nowotworu, występowanie ALL w wieku pediatrycznym oraz występowanie nowotworów w rodzinie, współwystępowanie ALL oraz innych cech fenotypowych jak niepełnosprawność intelektualna, cechy dysmorficzne, cytotoksyczność występująca w trakcie leczenia oraz aberracje w genomie nowotworowym. Grupę badaną scharakteryzowano bardzo szczegółowo, zarówno opisowo, jak i w formie tabel oraz rycin. Analizowane dane

kliniczne obejmowały wiek w chwili diagnozy, poziom choroby resztkowej, stratyfikacje do grupy ryzyka, wystąpienie wznowy choroby, steroidowrażliwość, czas całkowitego przeżycia. W części dotyczącej zakresu przeprowadzonych badań genetycznych, Doktorantka szczegółowo omówiła zarówno metodykę wykonywania oznaczeń, jak i metody analizy uzyskanych wyników. Zestawienie zidentyfikowanych patogennych wariantów genowych związanych z predyspozycją do ALL i innych nowotworów zawarła w tabeli 5. Grupa badana licząca 42 pacjentów może wydawać się niezbyt liczna, jednakże biorąc pod uwagę częstość występowania nowotworów u dzieci, liczebność należy uznać za bardzo satysfakcjonującą. Ogółem warianty patogenne zidentyfikowano u 57% pacjentów, którzy spełnili kryterium rodzinne, (42% ) pacjentów, którzy spełnili kryterium ALL oraz drugi nowotwór, 90 % pacjentów, którzy spełnili kryterium ALL oraz współistniejące cechy fenotypu, oraz 77% pacjentów włączonych na podstawie aberracji zidentyfikowanej w genomie białaczki.

W kolejnych podrozdziałach Doktorantka prezentuje wyniki uzyskanych badań omawiając warianty patogenne silnie powiązane z ryzykiem wystąpienia ostrej białaczki limfoblastycznej, warianty patogenne występujące w genach powiązanych z ryzykiem zachorowania na ALL i inne typy nowotworów, warianty patogenne o niepotwierdzonym związku z predyspozycją do zachorowania do ALL, ale powiązane z ryzykiem rozwoju innych nowotworów. Następnie przedstawia warianty o nieznanym znaczeniu klinicznym występujące w genach powiązane z ryzykiem wystąpienia ALL oraz innych nowotworów oraz warianty patogenne o nieznanym związku z ryzykiem ALL i innych nowotworów. Szczegółowe wyniki Doktorantka zamieściła w tabelach 5, 6 i 7. Słuszną decyzją było przeniesienie szczegółowego panelu badanych genów powiązanych z onkogenezą oraz sekwencje primerów do tabel znajdujących się poza głównym tekstem rozprawy. Prezentacja wariantów występujących w rodzinie możliwa była w przypadku 14 rodzin i uwarunkowana była dostępnością materiału od rodziców.

W obszernej dyskusji Doktorantka omawia kolejne uzyskane wyniki badań, konfrontując je z danymi z literatury. Chciałam podkreślić, że wykorzystane piśmiennictwo (obejmujące aż 233 pozycje!) jest w zdecydowanej większości bardzo aktualne i pochodzi z ostatnich kilku lat, co oczywiście potwierdza nowatorski charakter prowadzonych przez Doktorantkę badań. Sposób prowadzenia dyskusji jest swobodny, płynny i dojrzały. W przeprowadzonym badaniu ujawniono warianty patogenne wcześniej niepowiązane z występowaniem ostrej białaczki limfoblastycznej, w związku z czym nie było możliwe odniesienie tego wyniku do obserwacji innych autorów. Nie jest to oczywiście zarzut z mojej strony, wręcz przeciwnie, jest spostrzeżenie niezwykle inspirujące u młodej adeptki nauki.

Na podstawie przeprowadzonych badań mgr Kamila Wypyszczak sformułowała cztery jasne i trafne wnioski. Określiła w nich przydatność kryteriów klinicznych, takich jak dodatni wywiad rodzinny, występowanie więcej niż jednego nowotworu w wieku pediatrycznym czy współwystępowanie innych cech fenotypowych w identyfikacji defektów genetycznych predysponujących do rozwoju ostrej białaczki limfoblastycznej. Kolejnym wnioskiem jest pozytywna rekomendacja dla nowoczesnych metod sekwencjonowania nowej generacji w identyfikacji defektów genetycznych predysponujących do rozwoju ostrej białaczki limfoblastycznej.

Za najciekawszy wniosek, świadczący o dużej dojrzałości Doktoranki, a także o jej krytycznym spojrzeniu na przeprowadzone przez siebie badania uważam wniosek ostatni, w którym Doktoranka podaje, że wykorzystanie metod sekwencjonowania nowej generacji jest obarczone dużym ryzykiem identyfikacji wielu unikalnych wariantów genetycznych o nieznanym znaczeniu klinicznym, co może utrudniać wykazanie związku przyczynowo-skutkowego w ocenie predyspozycji do rozwoju ostrej białaczki limfoblastycznej. Praca napisana jest świetną polszczyzną, przyjaznym językiem.

Jestem przekonana, a zarazem wyrażam nadzieję, że p. mgr Kamila Wypyszczak będzie kontynuowała swoją działalność naukową w obszarze predyspozycji genetycznych do nowotworzenia.

Z obowiązku recenzentki pozwalam sobie zwrócić uwagę na drobne błędy edycyjne i językowe. W mojej ocenie sformułowanie „leczenie chemioterapeutyczne brzmi niezręcznie i powinno się je zastąpić po prostu „chemioterapią”. Dodatkowo zamiast „guz Ewinga” powinno się używać konsekwentnie określenia mięsak Ewinga. Powyższe uwagi nie mają oczywiście wpływu na moją niezwykle wysoką ocenę tej rozprawy, która spełnia wszelkie warunki określone przez aktualną Ustawę o tytule naukowym i stopniach naukowych.

**Wnioskuje zatem do Wysokiej Rady Wydziału Lekarskiego Uniwersytetu Medycznego w Łodzi o dopuszczenie rozprawy mgr Kamili Wypyszczak do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Równocześnie wnioskuje o wyróżnienie pracy pt. Poszukiwanie predyspozycji genetycznych do rozwoju ostrej białaczki limfoblastycznej u dzieci. Trafny wybór tematu rozprawy, jej nowatorski charakter, a także wykazane przez Doktorantkę w czasie realizacji pracy doktorskiej profesjonalne wykorzystanie uzyskanych wyników badań dla rozwiązywania postawionych sobie zadań badawczych, a także swoboda prowadzenia dyskusji i uzasadniają wniosek o wyróżnienie w/w pracy.**

Katedra i Klinika Pediatrii,  
Hematologii i Onkologii  
Gdańsk/Uniwersytet Medyczny  
dr hab. n. med. Nina Iga-Jaworska  
Kierownik