

Recenzja 1

Prof. dr hab. med. Jerzy R. Kowalczyk

Recenzja rozprawy doktorskiej mgr Kamili Wypyszcak „W poszukiwaniu predyspozycji genetycznych do rozwoju ostrej białaczki limfoblastycznej u dzieci”

Zasadniczą rolę w powstawaniu białaczki odgrywają zaburzenia genetyczne o charakterze różnego rodzaju mutacji w obrębie DNA komórek. Dotyczą one w szczególności genów związanych z fizjologicznym przebiegiem i kontrolą procesu krwiotworzenia, onkogenów oraz genów supresorowych, regulujących proces apoptozy. W rezultacie komórki uwolnione są spod mechanizmów kontrolnych, co prowadzi do ich niekontrolowanego namnażania komórek o zmienionych cechach. Zdecydowana większość tych zaburzeń powstaje w komórkach rozrodczych lub w okresie gametogenezy. Jednakże u ok.10% dzieci nowotwory powstają na podłożu rodzinie występujących uwarunkowań genetycznych stwarzających zwiększone ryzyko zachorowania. W przypadku ostrej białaczki limfoblastycznej nosicielstwo wariantu genetycznego warunkującego rozwój choroby szacowane jest na ok.4%, co prawdopodobnie jest wartością niedoszacowaną ze względu na stosunkowo niewielką liczbę badań całogenomowych u tych pacjentów.

Dlatego uważam, że podjęcie przez mgr Kamilę Wypyszcak badań nad identyfikacją konstytucjonalnych defektów genetycznych predysponujących do rozwoju ostrej białaczki limfoblastycznej u dzieci jest w pełni uzasadnione i zasługuje na najwyższe uznanie. Wyniki badań przeprowadzonych przez mgr Kamilę Wypyszcak przedstawione zostały w przekazanej mi do oceny rozprawie doktorskiej.

Zasadniczym celem pracy było poszukiwanie mutacji germinalnych u dzieci z ostrą białaczką limfoblastyczną, spełniających kryteria kliniczne wysokiego ryzyka predyspozycji genetycznej oraz ocena przydatności tych wariantów genetycznych do identyfikacji wrodzonej predyspozycji do nowotworów. Projekt badania został zaakceptowany przez Komisję Bioetyczną Uniwersytetu Medycznego w Łodzi (RNN/183/10/KE). Uzyskano również świadomą zgodę wszystkich uczestników badania lub/i ich opiekunów prawnych. Badaną grupę stanowiło 42 pacjentów z ostrą białaczką limfoblastyczną diagnozowanych i

leczonych w Klinice Pediatrii, Onkologii i Hematologii Uniwersytetu Medycznego w Łodzi, według programu terapeutycznego ALL IC BFM 2002, ALL IC BFM 2009, AIEOP 2017 oraz EsPhALL 2009.

Rozprawa doktorska mgr Kamili Wypyszcak liczy ogółem 101 stron maszynopisu, zawiera 10 tabel i 10 rycin. Stanowią one czytelną ilustrację pracy i są wykonane bardzo starannie. Piśmiennictwo liczy 233 pozycje polskich i obcojęzycznych publikacji, w większości z ostatnich 10 lat. Piśmiennictwo jest właściwie wykorzystane w tekście, jednakże zalecałbym uporządkowanie zapisu: większość piśmiennictwa ma podawany rok w nawiasie na końcu, natomiast niektóre – na początku lub na początku i powtórnie na końcu (np. poz. 5, 40, 44). Ponadto niektóre pozycje nie mają podanych stron (np. poz. 28, 39, 42, 45). Niejasny jest również zapis poz. 59. Generalnie więc należy zweryfikować piśmiennictwo przed ew. publikacją.

Praca jest podzielona na następujące części: „Wstęp”, „Cele pracy”, „Materiały i metody”, „Wyniki”, „Dyskusja”, „Wnioski”, „Literatura”. Ponadto w pracy zamieszczono wykaz użytych skrótów, spis tabel i rycin, streszczenie pracy w języku polskim i angielskim oraz aneks zawierający panel badanych genów i sekwencje stosowanych primerów. Redakcyjny podział pracy na rozdziały i ich wzajemne proporcje objętościowe nie budzą zastrzeżeń.

We „Wstępie” doktorantka przedstawiła historię badań w poszukiwaniu wrodzonej predyspozycji do nowotworów oraz dotychczasowy stan wiedzy na ten temat. Następnie omówiła epidemiologię, i klasyfikację ostrej białaczki limfoblastycznej u dzieci. W dalszej części tego rozdziału dokładnie została omówiona etiologia, stratyfikacja i zasady leczenia tej choroby. W kolejnym podrozdziale Doktorantka skoncentrowała się na genetycznych aspektach wrodzonej predyspozycji do zachorowania na ostrą białaczkę limfoblastyczną, w tym na genach szczególnie związanych z ryzykiem zachorowania. W związku z tym przedstawiła zespoły chorobowe związane z tym ryzykiem dzieląc je na zespoły o wysokiej, umiarkowanej i niskiej penetracji do ALL. Cel pracy został przedstawiony przez mgr Kamile Wypyszcak w sposób jasny, precyzyjny i nie nasuwający żadnych zastrzeżeń.

W rozdziale pt. „Materiały i metodyka” doktorantka przedstawiła przyjęte kryteria rozpoznania ostrej białaczki limfoblastycznej, oraz dane kliniczne, które były wykorzystywane do analiz. Dokładnie opisano metody zastosowane do izolacji materiału biologicznego, sekwencjonowania i analizy danych NGS, sekwencjonowania RNA, analizy zmienności liczby kopii genów przy użyciu wysokorozdzielczych mikromacierzy SNP oraz pozostałych metod badawczych wykorzystanych w pracy.

Wyniki własnych badań Doktorantka przedstawiła w odpowiednim rozdziale oraz w formie 7 tabel i 5 rycin. Doktorantka dokonała analizy klinicznej 42 dzieci z rozpoznaniem ostrej białaczki limfoblastycznej pod kątem kryteriów predyspozycji do nowotworów. W badanej grupie pacjentów zidentyfikowano 24 genetyczne warianty patogenne lub potencjalnie patogenne. Autorka przedstawiła następnie szczegółowe analizy rodzinne poszczególnych pacjentów. Dzięki tym badaniom możliwe było postawienie diagnozy zespołów predyspozycji do nowotworów, takich jak np. zespół Blooma, zespołu Nijmegen, zespołu konstytutywnego defektu naprawy błędnie sparowanych zasad. Prócz pacjentów z defektami silnie związanymi z predyspozycją do ALL, Doktorantce udało się zidentyfikować warianty genetyczne, które dotychczas nie były związane z ryzykiem rozwoju tej choroby.

Rozdział poświęcony „Dyskusji” dowodzi umiejętności naukowego myślenia i zdolności do właściwego przedstawiania wyników własnych badań przez mgr Kamilę Wypyszczak. Doktorantka potrafiła na podstawie własnych badań przeprowadzić dokładną analizę i dyskusję z wynikami uzyskanymi przez innych autorów i równocześnie przedstawiła krytyczną ocenę uzyskanych wyników zdając sobie sprawę z niedoskonałości związanych z analizą danych klinicznych. Na podstawie analizy wyników własnych badań Doktorantka formułuje 4 końcowe wnioski, które dokumentują osiągnięcie postawionych celów. Należy podkreślić, że Doktorantka opanowała nowoczesny warsztat badań molekularnych i dzięki temu w przyszłości ma szanse kontynuacji badań na większej liczbie pacjentów.

Przedstawiona mi do oceny praca jest ważnym i oryginalnym wkładem Doktorantki do wiedzy na temat genetycznych predyspozycji do nowotworów człowieka. Podjęcie tego tematu przez mgr Kamilę Wypyszczak było w pełni uzasadnione, a założone cele zostały osiągnięte. Sposób realizacji pracy świadczy o zdolności autorki do logicznej interpretacji obserwowanych zjawisk oraz jej umiejętności przedstawiania swoich badań w formie pracy odpowiadającej wymogom stawianym rozprawom doktorskim.

Oceniając pozytywnie pracę doktorską pt. : **„W poszukiwaniu predyspozycji genetycznych do rozwoju ostrej białaczki limfoblastycznej u dzieci”**

stwierdzam, że spełnia ona 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.695 z późn. zm.), w związku z art.179 ust.1 ustawy z dnia 3 lipca 2018 r. Przepisy wprowadzające ustawę – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2018 r. poz. 1669 z późn.zm.). W związku z tym mam zaszczyt przedstawić Wysokiej Radzie Dyscypliny Nauk

Medycznych Uniwersytetu Medycznego w Łodzi wniosek o dopuszczenie mgr Kamilę Wypyszczak do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Równocześnie, biorąc pod uwagę nowatorski charakter pracy, nowoczesny warsztat badawczy opanowany przez Doktorantkę oraz praktyczne znaczenie uzyskanych wyników pracy, wnioskuję o uznanie rozprawy za wyróżniającą się.

Lublin, 25.09.2023 r.

