



Przewodniczący  
Rady Kolegium Nauk Medycznych

*Prof. dr hab. Przemysław Mitkowski*

# UNIwersYTET MEDYCZNY

## IM. PIASTÓW ŚLĄSKICH WE WROCŁAWIU

**Katedra i Klinika Neonatologii**

Kierownik; prof. dr hab. med. Barbara Królak-Olejnik

Wasze pismo z dnia:

Wasz znak:

Nasz znak:

Data

WL-30/ /25

Wrocław 15.I.2025

### RECENZJA

**rozprawy doktorskiej lek. Katarzyny Kosik-Szczupaczyńskiej,  
pt.: „Wpływ polimorfizmów jednonukleotydowych wybranych genów na  
występowanie oraz przebieg powikłań wcześniactwa”**

Postęp w dziedzinie perinatologii i możliwości diagnostyczno-terapeutyczne w neonatologii przyczyniły się do znaczącego wzrostu przeżywalności noworodków urodzonych z bardzo małą urodzeniową masą ciała. Poród przedwczesny uniemożliwia prawidłowy, wewnątrzmaciczny rozwój płodu. Zatem noworodki urodzone skrajnie przedwcześnie, zwłaszcza z ekstremalnie małą urodzeniową masą ciała stanowią istotną grupę pacjentów oddziałów intensywnej terapii noworodka. Postęp w dziedzinie neonatologii - stosowanie zaawansowanych technologii w intensywnej terapii noworodków, wdrażanie nieinwazyjnych form leczenia oddechowego, ograniczanie inwazyjnych procedur i włączanie rodziców do procesu pielęgnacji dziecka nie ograniczyło jednak częstości występowania ciężkich powikłań wcześniactwa, które od kilku lat pozostają na podobnym poziomie. Wyodrębnienie i analiza genetycznych czynników ryzyka, może odgrywać istotną rolę w zapobieganiu powikłań wcześniactwa, zwłaszcza w grupie pacjentów o zwiększonym ryzyku ich wystąpienia. W przyszłości terapia genowa może być opcją terapeutyczną, jeśli inne metody profilaktyki i leczenia powikłań wcześniactwa nie przyniosą rezultatów. Również ocena polimorfizmów może mieć szczególne znaczenie dla odpowiedzi na leczenie. Zatem połączenie badań genetycznych z farmakoterapią w nowej dziedzinie jeszcze nie mającej zastosowania w neonatologii, czyli farmakogenomice może mieć szczególne znaczenie w skuteczności leczenia przedwcześnie urodzonych noworodków oraz stanowić podstawę do poszukiwania oraz opracowywania terapii spersonalizowanej.

Temat podjęty przez Doktorantkę uważam za oryginalny, jednocześnie bardzo istotny z punktu widzenia nie tylko naukowego, ale przede wszystkim w najbliższej przyszłości praktycznego.

Na rozprawę doktorską składa się monotematyczny cykl trzech artykułów opublikowanych w międzynarodowych czasopismach naukowych indeksowanych w bazie pubmed lub/oraz znajdujących się na liście Journal Citation Reports.

1. Katarzyna Kosik, Dawid Szpecht, Salwan Al-Saad, Salwan, Lukasz Karbowski, Grażyna Kurzawińska, Marta Szymankiewicz-Bręborowicz, Krzysztof Drews, Hubert Wolski, Agnieszka Seremak-Mrozikiewicz. Single nucleotide vitamin D receptor polymorphisms (FokI, BsmI, ApaI, and TaqI) in the pathogenesis of prematurity complications. Scientific Reports 2020;10(1):21098.
2. Katarzyna Kosik, Anna Sowińska, Agnieszka Seremak-Mrozikiewicz, Jasmine A. Abu-Amara, Salwan R. Al-Saad, Lukasz M. Karbowski, Katarzyna Gryczka, Grażyna Kurzawińska, Marta Szymankiewicz-Bręborowicz, Krzysztof Drews, Dawid Szpecht. Polymorphisms of fibronectin-1 (rs3796123; rs1968510; rs10202709; rs6725958; and rs35343655) are not associated with bronchopulmonary dysplasia in preterm infants. Molecular and cellular biochemistry. 2022 Jun; 477(6):1645-1652.
3. Katarzyna Kosik, Dawid Szpecht, Łukasz Karbowski, Salwan R Al-Saad, Anna Chmielarz-Czarnocińska, Marcin Minta, Anna Sowińska, Ewa Strauss. Hemangioma-related gene polymorphisms in the pathogenesis of intraventricular hemorrhage in preterm infants. Child's Nervous Syst. 2023 Jun;39(6): 1589-1594.

Łączna wartość współczynnika oddziaływania IF wynosi 9.753 oraz 280 punktów według wykazu czasopism naukowych Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego. We wszystkich publikacjach lek. K. Kosik - Szczupaczyńska jest pierwszym autorem. Udział Doktorantki w przygotowaniu publikacji został potwierdzony stosownymi oświadczeniami współautorów.

Rozprawa doktorska ma układ typowy, na 48 stronach maszynopisu lek. K. Kosik-Szczupaczyńska zawarła krótkie wprowadzenie dotyczące znaczenia czynników genetycznych w patogenezie porodu przedwczesnego oraz powikłania wcześniactwa - zespół zaburzeń oddychania, krwawienia dokomorowe, dysplazję oskrzelowo-płucną, martwicze zapalenie jelit oraz retinopatię wcześniaków. Omówione zostały nie tylko znane czynniki ryzyka wystąpienia tych powikłań u noworodków urodzonych przedwcześnie, ale również prowadzone badania genetyczne, dotyczące polimorfizmów genów w ich patogenezie. W kolejnym rozdziale przedstawione zostały prace wchodzące w skład cyklu z uwzględnieniem wstępu, materiału i metod oraz wyników i wniosków. Następnie umieszczone zostało piśmiennictwo, streszczenie w języku polskim i angielskim oraz kopie publikacji stanowiących pracę doktorską, a także oświadczenia współautorów i orzeczenie komisji bioetycznej.

We wstępie Doktorantka omawia udział czynników genetycznych w patogenezie porodu przedwczesnego. Polimorfizmy jednonukleotydowe genów (ang. single nucleotide polymorphism, SNP) odgrywających rolę w odpowiedzi immunologicznej podczas ciąży, mogą potencjalnie nasilać reakcje prozapalne i w konsekwencji wpływać na czas trwania ciąży.

Istotne znaczenie odgrywają również loci genów zaangażowanych w procesy związane z przebudową tkanek. Wcześnieactwo stanowi główną przyczynę zespołu zaburzeń oddychania, krwawień dokomorowych, dysplazji oskrzelowo-płucnej, martwiczego zapalenia jelit oraz retinopatii wcześniaczej. Ryzyko tych powikłań jest odwrotnie proporcjonalne do wieku płodowego i urodzeniowej masy ciała noworodków. W kolejnych podrozdziałach wstępu doktorantka omawia epidemiologię tych powikłań, zwraca uwagę na czynniki ryzyka, a przede wszystkim na możliwe znaczenie czynników genetycznych. Wśród tych czynników wskazuje się na: mutację genu cz. V typu Leiden, mutację genu protrombiny oraz polimorfizm reduktazy metylotetrahydrofolianowej. W większości przeprowadzonych już badań genetycznych skupiono się na genach związanych z angiogenezą, stanem zapalnym, stresem oksydacyjnym.

Celem pracy doktorskiej stanowiącej monotematyczny cykl publikacji jest analiza wpływu polimorfizmów jednonukleotydowych (SNP) wybranych genów na występowanie oraz przebieg wymienionych wcześniej powikłań wcześniactwa.

Prace badawcze, na podstawie których powstały opublikowane artykuły były przeprowadzone w Oddziale Intensywnej Terapii Noworodka oraz Pracowni Biologii Molekularnej Ginekologiczno-Położniczego Klinicznego Szpitala Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu. Nie podano jednak okresu, w jakim rekrutowano pacjentów i wykonano badania genetyczne, ani kryteriów włączenia i wyłączenia.

Uzyskano zgodę Komisji Bioetycznej przy Uniwersytecie Medycznym w Poznaniu nr 66/14 i 799/16

W pierwszej pracy pt.: „Single nucleotide vitamin D receptor polymorphisms (FokI, BsmI, ApaI, and TaqI) in the pathogenesis of prematurity complications” opublikowanej w Scientific Reports 2020, analizowano rolę SNP genu receptora witaminy D (VDR) w patogenezie powikłań wcześniactwa: zespołu zaburzeń oddychania, krwawień dokomorowych, dysplazji oskrzelowo-płucnej, martwiczego zapalenia jelit oraz retinopatii wcześniaków. Włączono do badania 114 noworodków urodzonych między 24+0 a 32+0 tygodniem ciąży, przyjętych do Oddziału Intensywnej Terapii Noworodka Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu. Bezpośrednio po urodzeniu została pobrana próbka krwi (0,5 ml). Analizie poddano również płeć, wiek ciążowy, masę urodzeniową, ocenę punktacji w skali Apgar w 1. i 5. minucie życia, rodzaj porodu, parametry równowagi kwasowo - zasadowej (pH, niedobór zasad) z krwi pępowinowej pobranej bezpośrednio po urodzeniu na sali porodowej.

Wykazano 4 razy wyższe ryzyko występowania BPD wśród noworodków z genotypem CC ApaI (rs7975232) oraz 2 razy wyższe ryzyko wystąpienia BPD i NEC u nosicieli allelu C ApaI (rs7975232). U podstaw pleiotropowego działania witaminy D leży obecność receptora witaminy D na powierzchni niemal wszystkich komórek organizmu ludzkiego. Prowadzone badanie polimorfizmów jednonukleotydowych genu receptora witaminy D w powikłaniach u wcześniaków wykazało związek polimorfizmu genu VDR ApaI (rs7975232) z wystąpieniem dwóch powikłań wcześniactwa - BPD i NEC.

W drugiej pracy pt.: Polymorphisms of fibronectin-1 (rs3796123; rs1968510; rs10202709; rs6725958; and rs35343655) are not associated with bronchopulmonary dysplasia in preterm infants, opublikowanej w Molecular and cellular biochemistry. 2022 oceniono rolę polimorfizmów genu fibronektyny-1 (FN) w patogenezie dysplazji oskrzelowo-płucnej. Do badania zostało włączonych 108 noworodków urodzonych między 24+0 a 32+0 tygodniem ciąży. Analizie poddano podobnie jak w pierwszej pracy płeć, wiek ciążowy, masę urodzeniową, ocenę punktacji w skali Apgar w 1. i 5. minucie życia, rodzaj porodu, parametry równowagi kwasowo - zasadowej (pH, niedobór zasad) z krwi pępowinowej pobranej bezpośrednio po urodzeniu na sali porodowej, oraz dodatkowo fakt podania surfaktantu oraz tryb wentylacji zastosowanej po urodzeniu oraz długość jej trwania. W badanej populacji 28% noworodków rozwinęło BPD. Częstość występowania BPD była odwrotnie proporcjonalna do: masy urodzeniowej (istotnie wyższa u noworodków z masą urodzeniową poniżej 1000 g; 76,7% vs 23,3%, z niższą punktacją w skali Apgar w pierwszej i piątej minucie życia. BPD rozwijały częściej noworodki z infekcją wewnątrzmaciczną (76,7% vs 23,3%) oraz wentylowane konwencjonalnie (80,0% vs 20,0%). Średni czas wentylacji dzieci z BPD wynosił 53,5 dnia i był istotnie dłuższy niż u noworodków bez BPD (53,5 vs 9). Punktacja w skali Apgar podana jako mediana 4,5. Pomimo istotnego udziału fibronektyny w patogenezie dysplazji oskrzelowo-płucnej, nie potwierdzono roli polimorfizmów fibronektyny (rs3796123; rs1968510; rs10202709; rs6725958; rs35343655) w występowaniu i rozwoju tego powikłania u noworodków urodzonych przedwcześnie.

W trzeciej pracy pt.: Hemangioma-related gene polymorphisms in the pathogenesis of intraventricular hemorrhage in preterm infant, opublikowanej w Child's Nervous Syst. 2023 (na str. 34 nie podano pełnych danych 3. publikacji - brak nazwy czasopisma i roku publikacji) oceniono wpływ polimorfizmów genów biorących udział w angiogenezie na występowanie krwawień dokomorowych u noworodków urodzonych przedwcześnie tj. genu receptora  $\beta$ 2-adrenergicznego C79CG (ADRB C79CG), genu insulinopodobnego czynnika wzrostu IGF-1R G3174A (IGF-1R G3174A) i genu receptora KDR (KDR T1444C). Do badania zostały włączone 102 noworodki urodzone między 24+0 a 32+0 tygodniem ciąży, przyjęte do Oddziału Intensywnej Terapii Noworodka Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu. Badania PCR przeprowadzono w Instytucie Genetyki Człowieka Państwowej Akademii Nauk w Poznaniu. Analizie poddano podobnie jak w dwóch poprzednich pracach płeć, wiek ciążowy, masę urodzeniową, punktację w skali Apgar w 1. i 5. minucie życia, rodzaj porodu, parametry równowagi kwasowo - zasadowej (pH, niedobór zasad) z krwi pępowinowej pobranej bezpośrednio po urodzeniu na sali porodowej oraz dodatkowo wystąpienie zakażenia wewnątrzmacicznego. W badanej populacji IVH rozpoznano u 44,1% noworodków urodzonych przedwcześnie - IVH I stopnia wśród 18,6%; II stopnia u 21,56%, III stopnia u 3,9% noworodków, nie rozpoznano zawału krwotocznego okołokomorowego. Częstość IVH była znacząco wyższa u dzieci urodzonych przed 29 tygodniem ciąży (84,61% vs 15,39%), z masą

urodzeniową poniżej 1000g (75,0% vs 25,0%) i u noworodków z niższą punktacją w skali Apgar zarówno w pierwszej jak i piątej minucie życia. Wykazano, że IVH występowało około 2-krotnie rzadziej u noworodków z allelem G IGF-1R 3174G>A. Insulinopodobny czynnik wzrostu jest jednym z czynników odpowiedzialnych za prawidłowy rozwój mózgu noworodków. Polimorfizm zatem tego genu (allel G IGF-1R 3174G > A) może mieć istotny wpływ na częstość występowania ciężkich krwawień dokomorowych.

Omawianie danych zamyka podsumowanie, w którym Doktorantka wskazuje na istotne znaczenie genetyki molekularnej w profilaktyce, diagnostyce i leczeniu różnych jednostek chorobowych. Noworodki urodzone przedwcześnie stanowią szczególną grupę pacjentów, obciążonych licznymi powikłaniami wynikającymi z niedojrzałości, czyli urodzenia przed terminem porodu, ale również konieczności wdrożenia wielokrotnie długoterminowej ratującej życie intensywnej terapii. Diagnostyka obejmuje nie tylko badania laboratoryjne, ale również nowoczesne bardzo szczegółowe badania genetyczne, dotyczące również polimorfizmów genów, które mogą w przyszłości zmienić postępowanie terapeutyczne wobec tej populacji noworodków.

Brakuje niestety jednoznacznych wniosków wynikających z przeprowadzonych badań, odpowiadających celom rozprawy doktorskiej. Wnioski zostały przedstawione oddzielnie w każdej z publikacji.

Z obowiązku Recenzenta muszę zadać kilka pytań. Czy badania były wykonywane w tej samej grupie wcześniaków leczonych w OITN? Warto podać liczbę urodzonych w tym okresie noworodków podziałem na wiek płodowy. W publikacji pierwszej wpisany jest czas rekrutacji pacjentów od 2014 do 2019r., niestety nie wpisano tego w opracowaniu do rozprawy doktorskiej, podobnie jak kryteriów włączenia i wyłączenia. W publikacji drugiej włączono 108 noworodków w okresie od 2014 do 2018, również w opracowaniu nie podano kryteriów włączenia i wyłączenia. W publikacji trzeciej podano 105 noworodków włączonych do badania, jednak nie napisano w jakim okresie czasu rekrutowano pacjentów.

Warto przedstawić mocne i słabe strony przeprowadzonych badań, mimo, że w czasopiśmie w których opublikowano prace nie było tego wymogu.

Nie podano również ani w opublikowanych pracach ani w omówieniu tych publikacji formy finansowania badań genetycznych. Badania wnoszą ciekawe i istotne dane, które w przyszłości mogłyby mieć zastosowanie kliniczne pod warunkiem możliwości ich finansowania.

Drobne błędy literowe i stylistyczne nie pojawiające się w opracowaniu opublikowanych prac nie mają znaczenia dla wartości pracy, ale warto ich unikać w trakcie obrony pracy doktorskiej (m.in. niska masa ciała noworodka, zamiast mała czy mediana wartości Apgar podana jako 4,5 pkt).

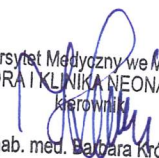
Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska składa się z monotematycznego cyklu publikacji i stanowi spójną przekrojową analizę obejmującą wybrane oraz jednocześnie całkowicie

nowatorskie zagadnienia, Dotyczące analizy wybranych polimorfizmów w powikłaniach występujących stosunkowo często u najmniejszych wcześniaków. Szczególnie istotne są analizy potwierdzające przydatności polimorfizmów genów w występowaniu BPD, NEC i IVH, w tej grupie pacjentów. Doktorantka zwróciła uwagę na przyszłościowe znaczenie badań genetycznych dla skuteczności leczenia przedwcześnie urodzonych noworodków oraz poszukiwania i opracowywania indywidualnej terapii genowej.

Rozprawa doktorska lek. Katarzyny Kosik-Szczupaczyńskiej to wartościowe opracowanie naukowe, dostarczające nowych dla wiedzy klinicznej danych, które uzasadniają konieczność kontynuacji badań w tym zakresie. Podsumowując stwierdzam, że drobne uwagi krytyczne i pytania nie mają wpływu na ocenę przedstawionej mi do recenzji pracy. Doktorantka w pełni odpowiedziała na zagadnienia postawione w celu pracy i wykazała się dużą wiedzą kliniczną i teoretyczną w temacie badania. Wszystkie prace będące podstawą rozprawy zostały poddane ocenie przez niezależnych recenzentów w procesie publikacji, uzyskały pozytywne recenzje, dlatego ich wartość merytoryczna nie podlega dyskusji i dodatkowej ocenie.

Rozprawa doktorska lek. Katarzyny Kosik-Szczupaczyńskiej, pt.: „Wpływ polimorfizmów jednonukleotydowych wybranych genów na występowanie oraz przebieg powikłań wcześniactwa.” spełnia merytoryczne i formalne wymogi stawiane na stopień doktora w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu oraz spełnia warunki określone w art.187 ust.1-4 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 roku Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (tj.Dz.U. 2018 poz.1668).

Mam zaszczyt przedstawić Kolegium Nauk Medycznych Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu wnioszek o dopuszczenie lek. Katarzyny Kosik-Szczupaczyńskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu  
KATEDRA I KLINIKA NEONATOLOGII  
Kierownik  
  
prof. dr hab. med. Barbara Królak-Olejnik