

**Recenzja rozprawy doktorskiej pt. „Nieinwazyjna diagnostyka prenatalna zygotyczności ciąży bliźniaczych w oparciu o analizę polimorfizmu markerów STR i DIP-STR w DNA pozakomórkowym izolowanym z krwi matki.”**

**autorstwa mgr Agnieszki Marii Dziennik**

wykonanej w Katedrze i Zakładzie Medycyny Sądowej  
Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego  
**promotor: dr hab. n.med. Krzysztof Rębała**

Przedłożona do recenzji rozprawa doktorska na stopień doktora nauk medycznych pt. „Nieinwazyjna diagnostyka prenatalna zygotyczności ciąży bliźniaczych w oparciu o analizę polimorfizmu markerów STR i DIP-STR w DNA pozakomórkowym izolowanym z krwi matki” porusza ważny, a zarazem ciekawy aspekt wykorzystania analizy polimorfizmu krótkich powtórzeń tandemowych - STR, stosowanych powszechnie w medycynie sądowej do genetycznej identyfikacji człowieka, w diagnostyce prenatalnej, ukierunkowanej na ocenę zygotyczności bliźniąt.

Ciąża bliźniacza stanowi ciążę wysokiego ryzyka ze względu na częstsze występowanie powikłań w porównaniu do ciąży pojedynczej. W ostatnich latach notuje się w Polsce wzrost częstości występowania ciąży bliźniaczych, co spowodowane jest m.in. odkładaniem decyzji o rozrodzie (udział ciąży bliźniaczych rośnie wraz z wiekiem matki) oraz coraz powszechniejszym stosowaniem technik wspomaganego rozrodu. Kobiety w ciąży bliźniaczej mają wyższe ryzyko rozwinięcia stanu przedrzucawkowego, częściej także rodzą przedwcześnie.

Ciąże bliźniacze mogą powstawać w wyniku zapłodnienia dwóch komórek jajowych przez dwa plemniki, wówczas taką ciążę określa się jako dizygotyczną lub w wyniku podziału zarodka na dwie identyczne struktury embrionalne w ciągu kilku dni od



zapłodnienia pojedynczej komórki jajowej przez jeden plemnik. W tym przypadku mamy do czynienia z ciążą monozygotyczną. W ocenie ciąży wielopłodowej pod uwagę bierze się również kosmówkowość – liczbę mas łożyska oraz liczbę worków owodniowych. Największą różnorodność w tej ocenie obserwuje się w przypadku ciąż monozygotycznych. Ciąże dizygotyczne praktycznie zawsze są dwukosmówkowe i dwuowodniowe. Kosmówkowość i owodniowość w przypadku ciąż monozygotycznych uzależniona jest od czasu, w jakim doszło do podziału zarodka, biorąc pod uwagę moment zapłodnienia komórki. Ta różnorodność w ocenie rozwoju ciąży bliźniaczej może nastroczać wiele problemów związanych z optymalną oceną ryzyka, szczególnie jeśli do podziału zarodka doszło bardzo wcześnie, w stadium moruli, co skutkuje obecnością dwóch kosmówek.

Określenie kosmówkowości jest istotne ze względu na zapewnienie odpowiedniej opieki prenatalnej w ciąży bliźniaczej. W porównaniu z ciążami dwukosmówkowymi ciążę jednokosmówkową związane są ze zwiększonym ryzykiem i wymagają ściślejszego nadzoru ze względu na charakterystyczne dla tego rodzaju ciąży powikłania obarczone dużym ryzykiem obumarcia jednego lub obu płodów, jak również uszkodzeń narządowych prowadzących do zwiększonej umieralności i zaburzeń rozwoju w późniejszym życiu.

Wśród ciąż bliźniaczych najwyższy odsetek powikłań i zgonów okołoporodowych notuje się w przypadku ciąż monozygotycznych.

Ocena zygotywności bliźniąt jest podyktowana względami medycznymi, w aspekcie transplantacji narządów czy też oceny dziedziczenia chorób, a także względami tożsamościowymi oraz naukowymi. Wiedza ta jest szczególnie istotna, kiedy kosmówkowość pozostaje niemożliwa do oceny lub może wpłynąć na postępowanie kliniczne. Zygotywność jest zatem istotnym czynnikiem w diagnostyce prenatalnej i poradnictwie genetycznym.

Do oceny zygotywności wykorzystuje się między innymi analizę polimorfizmu DNA materiału pobranego podczas amniopunkcji, biopsji kosmówki lub kordocentezy. W ostatnim czasie coraz częściej obserwuje się wykorzystanie technik analizy genetycznej w oparciu o materiał pobrany bez konieczności stosowania technik inwazyjnych.

Badania podjęte przez Panią magister Agnieszkę Dziennik są zatem w pełni uzasadnione i wpisują się w problematykę diagnostyczną przedstawioną powyżej.





Rozprawa doktorska powstała w oparciu o wyniki prezentowane w 2 publikacjach naukowych, powiązanych tematycznie, o całkowitym współczynniku oddziaływania  $IF=2.535$  i 110 punktach wg MEiN, w których Doktorantka jest pierwszym autorem.

Zgodnie z oświadczeniem, udział Doktorantki polegał na wymyśleniu i ustaleniu założeń i celów badań, zaprojektowaniu badań, wykonaniu eksperymentów, badań laboratoryjnych, zbieraniu materiału i danych, zarządzaniu projektem, analizie i interpretacji danych oraz napisaniu manuskryptów.

Na przeprowadzenie badań Doktorantka uzyskała zgodę Niezależnej Komisji Bioetycznej do spraw Badań Naukowych przy Gdańskim Uniwersytecie Medycznym.

Część merytoryczną rozprawy rozpoczyna szczegółowe „Streszczenie” w języku polskim oraz angielskim. Jest ono poprzedzone „Wykazem publikacji”, „Wykazem stosowanych skrótów” oraz „Spisem treści”. W dalszej części rozprawy, Doktorantka w przystępny sposób omawia problem badawczy. Niejasnym wydaje się być tu jednak sformułowanie dotyczące pochodzenia cięż monozygotycznych, a mianowicie Autorka wskazuje, że do powstania ciąży monozygotycznej dochodzi na skutek podziału zarodka na dwie identyczne struktury embrionalne w ciągu pierwszych 14-16 dni od zapłodnienia jednej komórki jajowej przez jeden plemnik – str. 12. Wiadomym jest natomiast, że podział zarodka w stadium moruli może już skutkować ciążą monozygotyczną. W mojej ocenie taki zapis to raczej efekt tzw. literówki w określeniu do wartości 14, który nie ma dalszego negatywnego wpływu na ocenę części merytorycznej pracy tym bardziej, że w dalszej części Autorka poprawnie definiuje ten problem.

W dalszej części pracy mgr Agnieszka Dziennik w jasny sposób przedstawia cele pracy. W rozdziale zatytułowanym „Materiał i metody badawcze” Doktorantka odwołuje się do sposobu opracowania materiału badawczego, który został szczegółowo opisany w publikacjach będących integralną częścią rozprawy doktorskiej. Na szczególną uwagę zasługują tu fakt opracowania przez Autorkę metody analizy haplotypów obejmujących dwa regiony polimorficzne: delecję/insercję oraz marker satelitarny.

W rozdziale „Omówienie wyników badań”, Doktorantka przedstawia wyniki zawarte w tych publikacjach. Pierwszą pracę stanowi publikacja oryginalna opublikowana w „*Twin Research and Human Genetics* [2019; 22,321-329], w której szczegółowo przedstawiono propozycję diagnostyki zygotywności w oparciu o analizę polimorfizmów markerów STR i DIP-STR w izolowanym DNA. Na podstawie uzyskanych wyników oceniono czułość, swoistość oraz dokładność proponowanych testów. Na uwagę świadcząca o świadomości naukowej Doktorantki zasługuje jej krytyczność wobec

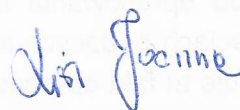


czułości testu dla 7 markerów DIP-STR i konieczność przeprowadzenia analizy u kobiet we wczesnej ciąży, biorąc pod uwagę udział wolnego DNA płodowego w osoczu matki. Drugą pracę stanowi publikacja oryginalna opublikowana w *Ginekologii Polskiej* [2022; vol.93, no. 4, 310-313]. Wyniki badań przedstawione w tej pracy stanowią kontynuację badań opublikowanych przez Doktorantkę i współpracowników w *Twinn Research and Human Genetics* [2019; 22,321-329] i wskazują na duży potencjał badań DNA w ustalaniu zygotywności ciąży bliźniaczych pod względem oceny ryzyka, wymagających innej opieki prenatalnej.

Pragnę podkreślić, iż opracowanie oraz optymalizacja całego procesu analizy DIP-STR z udziałem zaprojektowanych przez Doktorantkę zestawów do amplifikacji DNA wymagało wiedzy z zakresu analizy polimorfizmów oraz zasad projektowania badań, co jednoznacznie świadczy, że mgr Agnieszka Dziennik jest dojrzałym naukowcem, z dobrym warsztatem badawczym. Potrafi zaprojektować i przeprowadzić badania oraz opublikować wyniki tych badań.

Podsumowując stwierdzam, że Doktorantka wykazała się właściwą wiedzą w zakresie omawianej tematyki, dobrą znajomością piśmiennictwa i metod badawczych oraz poprawnej interpretacji wyników.

Przedłożona mi do recenzji rozprawa doktorska spełnia warunki określone w art. 187 Ustawy Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2021 r. poz.478 ze zm.). Mam zatem zaszczyt przedstawić Radzie Nauk Medycznych Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego wniosek o dopuszczenie mgr Agnieszki Marii Dziennik do dalszych etapów przewodu doktorskiego.



Dr hab. Joanna Liss, prof. UG