



Olga Haus

Recenzja rozprawy doktorskiej

Lekarz Natalii Braun-Walickiej

pt. **„Analiza podłoża molekularnego wybranych zespołów klinicznych
uwarunkowanych mutacjami genów szlaku RAS – MAPK.**

**Próba określenia algorytmu diagnostycznego
dla potrzeb poradnictwa genetycznego”**

Zespoły kliniczne spowodowane mutacjami genów szlaku sygnałowego RAS-MAPK, określane jako RASopatie, stanowią heterogenną grupę zarówno pod względem podłoża genetycznego, jak i objawów klinicznych. Mają jednak wiele wspólnych mianowników; pierwszym z nich jest, niezależnie od tego, który gen jest zmutowany, zaburzenie końcowego efektu działania szlaku RAS-MAPK, co przekłada się na drugi wspólny mianownik tych zespołów – podobieństwo kliniczne, zwłaszcza w zakresie cech dysmorficznych oraz występowania niektórych wrodzonych wad i zaburzeń.

Niektóre RASopatie są znane i opisywane od dawna (np. zespół Noonan), inne dopiero niedawno dołączyły do tej grupy (np. NFNS). Podłoże genetyczne i mechanizmy powstania wielu z nich nie są jeszcze całkowicie poznane. W Polsce nie było dotychczas pracy, która by przedstawiała wyniki analizy dużej grupy pacjentów z RASopatiami.

Lukę tę znakomicie wypełnia praca doktorska pani Natalii Braun-Walickiej, przedstawiająca charakterystykę molekularną i kliniczną ponad 170 pacjentów z RASopatiami, głównie z zespołem Noonan.

Celem poznawczym rozprawy doktorskiej lekarz Natalii Braun-Walickiej była charakterystyka obrazu klinicznego chorych z różnymi zespołami z grupy RASopatii, ocena jego zmienności z wiekiem oraz próba korelacji wybranych cech fenotypu pacjentów z określonymi defektami molekularnymi. Celem klinicznym było określenie

klinicznych i molekularnych kryteriów diagnostycznych wybranych RASopatii i na ich podstawie ustalenie algorytmu postępowania diagnostycznego dla celów poradnictwa genetycznego oraz sformułowanie zasad opieki i poradnictwa genetycznego dla rodzin obciążonych występowaniem tych zespołów.

Cele rozprawy zostały dobrze sformułowane i, co najważniejsze, osiągnięte.

Rozprawa ma typowy układ rozdziałów i podrozdziałów. Właściwą jej treść poprzedza tabela skrótów, po której następuje „Wstęp”, bogato ilustrowany tabelami i rycinami. Tabele są w większości klarowne i znakomicie ułatwiają lekturę „Wstępu”. „Wstęp” jest napisany z dużą znajomością tematu, przedstawia całą panoramę zmian molekularnych i fenotypowych w zespołach należących do RASopatii, powiązania między nimi oraz mechanizm działania ścieżki sygnałowej RAS-MAPK.

Tabela skrótów jest bardzo dobrze skonstruowana i wypełniona, z małą liczbą literówek, aczkolwiek zastanawia mnie sformułowanie „genetyczny fenotyp”, zawarte w objaśnieniu skrótu bazy OMIM. We „Wstępie” natomiast zastanowiło mnie sformułowanie typ dziedziczenia lub postać „autosomalnie recesywna”. Dotychczas znałam dziedziczenie „autosomalne recesywne” lub „autosomalne dominujące”, itp., w których określeniu występowały dwa niezależne przymiotniki, a nie przysłówki z przymiotnikiem. Mało szczęśliwym sformułowaniem jest również „ptoza szpar powiekowych”. Autorka nie ustrzegła się także kalek językowych z angielskiego (typu „wydaje się być”), ale są one, na szczęście, bardzo skromnie reprezentowane. Ogólnie wstęp sprawia bardzo dobre wrażenie, jest czytelnie napisany, obfitujący w interesujące szczegóły i zachęca do dalszej lektury.

Grupę badaną stanowiło 172 pacjentów z różnymi RASopatiami, w tym 155 z zespołem Noonan i 17 z innymi zespołami. Około stu pacjentów Doktorantka przebadła osobiście, około 30 przebadali inni lekarze z poradni genetycznej Instytutu Matki i Dziecka w Warszawie (IMiD), i około 40 było skierowanych przez lekarzy spoza IMiD.

Głównym kryterium włączenia pacjenta do badań było stwierdzenie dysmorfii specyficznej dla określonego zespołu z grupy RASopatii. Kryteriami pomocniczymi były poszczególne cechy fenotypowe, takie jak niedobór wysokości ciała, określone typy wrodzonych wad serca, wad klatki piersiowej, zmian skórnych, nieprawidłowe

wyniki badań układu krzepnięcia oraz opóźniony rozwój psychoruchowy lub niepełnosprawność intelektualna.

Diagnostyka molekularna została przeprowadzona u wszystkich pacjentów przez zespół Pracowni Genetyki Rozwoju Zakładu Genetyki Medycznej IMiD, kierowanej przez dr hab.n.med. Monikę Gos. W latach wcześniejszych, 2009-2014, analiza mutacji wybranych genów szlaku RAS-MAPK była przeprowadzana techniką sekwencjonowania DNA według Sangera, w późniejszych, 2015-2016, techniką NGS (next generation sequencing). U 15 pacjentów wykonano dodatkowo (?) analizę całoksomową (whole exome sequencing – WES) we współpracy z Department of Human Genetics, McGill University, Montreal, Kanada.

Doktorantka dokonała bardzo szczegółowej analizy klinicznej probandów i ich rodzin, wykazując, że jest znakomitym dysmorfologką, godną tego miana uczennicą swojego Promotora – prof. Tadeusza Mazurczaka i pani dr n.med Ewy Obersztyn. Następnie poklasyfikowała opisy fenotypowe pacjentów i zestawiała je z wynikami analiz molekularnych w celu znalezienia korelacji genotypowo-fenotypowych. Znalazła wiele interesujących korelacji poszczególnych cech fenotypu i częstości ich występowania z mutacjami określonych genów, a także z określonymi mutacjami tych genów.

Analiza obrazu klinicznego pacjentów dotyczyła nie tylko cech dysmorficznych osób badanych, ale także występujących u nich zaburzeń rozwojowych w okresie pre- i post-natalnym, wad wrodzonych oraz nieprawidłowości skóry i jej produktów. Szczególną uwagę zwróciła Doktorantka na wady układu krążenia (zwężenie zastawki tętnicy płucnej, kardiomiopatia przerostowa i inne) oraz zniekształcenia klatki piersiowej („kurza”, „szewska” – nie jestem pewna czy nazwy te w dobie poprawności politycznej mogą być w dalszym ciągu używane, ale przyznać trzeba, że znakomicie obrazują typ zniekształcenia) oraz ich zależność od typu zmian molekularnych: zwężenie zastawki tętnicy płucnej częściej u osób z mutacjami *PTPN1* i *SOS1*, kardiomiopatia przerostowa częściej u chorych z mutacją *RAF1*, PDA, koarktacja aorty i zaburzenia przewodzenia częściej u osób z mutacjami w innych, niż trzy główne, genach. Szewska klatka piersiowa była najczęstszym zniekształceniem klatki. Obecność jej była skorelowana z mutacjami w genach *PTPN1* i *SOS1*. Natomiast kurza klatka piersiowa i niskorosłość znamienne częściej występowały u osób z mutacjami w genie *RAF1*, wnętrostwo głównie u chłopców z

mutacjami *SOS1*, znamiona skórne i piegi częściej u osób z mutacjami *RAF1*, skośne do dołu szpary powiekowe częściej u chorych z mutacjami *SOS1*).

Analizując korelacje między określonymi cechami fenotypowymi a określonymi, opisanymi w literaturze, mutacjami poszczególnych genów Doktorantka zaobserwowała m.in. skojarzenie trójkątnego kształtu twarzy z mutacją c.923A>G genu *PTPN1*, a kardiomiopatii przerostowej i wrodzonej anemii z mutacją c.770C>T genu *RAF1*.

Zauważyła również pewną zmienność ujawniania się, nasilania się (ustawienie skośne w dół szpar powiekowych) lub słabnięcia niektórych objawów wraz z wiekiem.

Opisując rodziny z poszczególnymi RASopatiami lek. Natalia Braun-Walicka zauważyła, że w większości z nich proband spełniał więcej kryteriów diagnostycznych niż jego krewni, mający tę samą mutację. Może dlatego właśnie stał się probandem? Stwierdziła również, że aż w 28 (czyli we wszystkich?) przypadkach rodzinnych rozpoznanie choroby u rodzica nastąpiło dopiero po weryfikacji diagnozy molekularnej u dziecka.

Bardzo dobrą częścią pracy jest dyskusja – wielowątkowa, poruszająca wszystkie aspekty fenotypowe i genotypowe RASopatii, zmienność objawów w czasie, występowanie rodzinne, skojarzenie z określonymi mutacjami. Wyniki swoich badań Doktorantka bardzo rzetelnie przedyskutowała w kontekście wyników innych autorów.

Pracę kończy 10 wniosków, z których część nie stanowi wniosków *sensu stricto*, ale bardzo cenne wskazówki dla osób zajmujących się problematyką RASopatii, a szczególnie lekarzy genetyków klinicznych.

Mam natomiast jeszcze kilka uwag w odniesieniu do języka pracy. Na ogół jest on poprawny, ładny, pracę czyta się dobrze, aczkolwiek czasem trzeba się przedzierać przez nie zawsze czytelne tabele. Jednak co jakiś czas zdarzają się w tekście proste błędy językowe – np. „jasno niebieski”, zamiast „jasnoniebieskiego”, koloru oczu, czy wspomniane wyżej kalki językowe z angielskiego. Praca zostanie jednak opublikowana w języku angielskim, więc język polski nie będzie przeszkodą...

Nie mam żadnych uwag merytorycznych odnośnie do ocenianej pracy doktorskiej. Uważam, że jest ona dojrzała, kompetentnie napisana i że jej Autorka

wykazała się nie tylko wiedzą i znajomością literatury, ale i inwencją w wyszukiwaniu stawianych sobie zadań, zależności do wykazania, itp. Wykazane przez Nią korelacje mają nieocenioną wartość dla przyszłych adeptów genetyki klinicznej, a opracowany przez Doktorantkę algorytm diagnostyczny będzie znakomitą pomocą w praktyce poradnictwa genetycznego.

Praca lekarz Natalii Braun-Walickiej jest interesująca, ma znaczenie poznawcze i kliniczne nie tylko teraz, ale będzie je też miała w przyszłości, powinna być więc kontynuowana. Na podstawie tego, co pisze Autorka w „Dyskusji”, można wnioskować, że tak się stanie; w jej najbliższych planach badawczych znajduje się kontynuacja projektu realizowanego we współpracy IMiD z Instytutem Fizjologii i Patologii Słuchu w Kajetach, mającego na celu wyjaśnienie patomechanizmu neurofunkcjonalnego powstawania zaburzeń funkcji poznawczych u pacjentów z zespołem Noonan. Doktorantka jest kierownikiem tego projektu.

Podsumowując stwierdzam, że mimo ww. drobnych formalnych niedociągnięć, oceniana rozprawa doktorska jest bardzo wartościową pracą, pierwszą w Polsce tak szeroko omawiającą pacjentów z RASopatiami, mającą zarówno walory poznawcze, jak i kliniczne. Bezcennym efektem ocenianej pracy doktorskiej jest przydatna w poradnictwie genetycznym dogłębna charakterystyka chorych z mutacjami szlaku RAS-MAPK oraz zaproponowanie algorytmu diagnostycznego dla tych pacjentów.

Stwierdzam, że rozprawa doktorska „Analiza podłoża molekularnego wybranych zespołów klinicznych uwarunkowanych mutacjami genów szlaku RAS – MAPK. Próba określenia algorytmu diagnostycznego dla potrzeb poradnictwa genetycznego” jest oryginalną pracą, której wyniki zasługują na opublikowanie w czasopiśmie z wysoką punktacją IF. Spełnia ona jednocześnie kryteria określone w art.13 ust.1, ustawy z dnia 14 marca 2003 o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U. nr 65, poz.595, z późn. zm.). W związku z tym wnioskuję do Rady Naukowej Instytutu Matki i Dziecka w Warszawie o dopuszczenie lekarz Natalii Braun-Walickiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Jednocześnie, ze względu na ogrom pracy włożonej w charakterystykę dużej grupy pacjentów, oryginalność rozprawy, jej znaczące walory poznawcze oraz niewątpliwe walory kliniczne, wnioskuję o jej wyróżnienie.

Bydgoszcz, 20.11.2022

Kierownik
Katedry Genetyki Klinicznej

prof. dr. hab. Olga Haus