

Warszawa 25.01.2022 r.

**Recenzja
pracy na stopień doktora
mgr Anny Nykiel**

**pt. „Wykorzystanie technologii digital PCR do detekcji aneuploidii u płodu
- opracowanie i implementacja nowego narzędzia diagnostycznego”**

Przedstawiona mi do recenzji praca na stopień doktora składa się z cyklu publikacji obejmującego trzy prace oryginalne opublikowane w recenzowanych czasopismach o łącznym Impact Factor = 11,968 i sumarycznej punktacji MNiSW = 280.

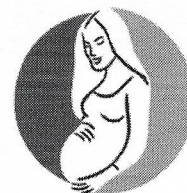
Dysertacja zawiera *Streszczenie* w języku angielskim i polskim, *Komentarz do cyklu publikacji* w języku angielskim i polskim, *Kopie prac z cyklu publikacyjnego*, *Opinię Komisji Bioetycznej* oraz *Oświadczenia współautorów publikacji*.

Komentarz do cyklu publikacji stanowi część rozprawy, w której Doktorantka min. uzasadnia stworzenia z trzech publikacji monotematycznego cyklu. Zawiera *Wykaz prac z cyklu publikacji*, krótki *Wstęp*, *Cel Pracy*, zwięzłe *Omówienie publikacji składających się na cykl publikacyjny*, zawierające *Wyniki* i *Wnioski* dla każdej z publikacji, *Znaczenie praktyczne i naukowe badań* i *Referencje* zawierające 9 pozycji piśmiennictwa zacytowane we *Wstępie*.

Badania w sumie przeprowadzono u 652 kobiet w ciąży, u których w wyniku przeprowadzonych wcześniej badań przesiewowych stwierdzono podwyższone ryzyko aneuploidii u płodu i zostały zakwalifikowane do diagnostyki inwazyjnej (amniopunkcji i biopsji kosmówki) i standardowej oceny kariotypu. Materiał pobrano w Poradni Genetycznej Instytutu Centrum Zdrowia Matki Polki.

W pracy doktorskiej Autorka przedstawiła następujące Cele:

1. Opracowanie i walidacja nowej metody z wykorzystaniem nowoczesnej technologii digital PCR do szybkiej analizy najczęstszych aneuploidii u płodu.
2. Określenie użyteczności klinicznej nowego narzędzia diagnostycznego digital PCR do detekcji aneuploidii na podstawie czułości i specyficzności.



3. Zdefiniowanie dokładności metody digital PCR do detekcji aneuploidii u płodu w przypadku występowania kontaminacji komórkami maczynymi.

Cele realizowano w 3 badaniach, które zaowocowały ukazaniem się 3 publikacji wchodzących w skład Cyklu:

Publikacja nr 1.: *Nykel A, Kaszkowiak M, Fendler W, Gach A. Chip-Based Digital PCR Approach Provides A Sensitive and Cost-Effective Single-Day Screening Tool for Common Fetal Aneuploidies—A Proof of Concept Study. Int J Mol Sci. 2019; 20(21): 5486*

Publikacja poświęcona jest walidacji metody, w oparciu o 133 próbki materiału płodowego uzyskane w wyniku amniopunkcji i biopsji kosmówki.

Autorka, wraz z Zespołem Badaczy wykazała, że: „Digital PCR zapewnia statystycznie istotne rozróżnienie między próbkami euploidalnymi i aneuploidalnymi, zapewniając krótki protokół badania, niskie koszty, dużą precyzję oceny liczby kopii oraz łatwą implementację w praktyce klinicznej” oraz, że: „Digital PCR jest dokładną metodą do szybkiej identyfikacji najczęstszych aneuploidii u płodu, nawet w przypadkach niskiego poziomu mozaikowości”.

Uzyskane wyniki stały się punktem wyjścia do dalszych badań, których celem było „sprawdzenie skuteczności i użyteczności diagnostycznej nowej metody analizy aneuploidii u płodu”. Tej kwestii poświęcona została Publikacja nr 2. *Nykel A, Woźniak R, Gach A. Clinical Validation of Novel Chip-Based Digital PCR Platform for Fetal Aneuploidies Screening. Diagnostics. 2021; 11(7):1131*

Badanie przeprowadzono z wykorzystaniem materiału uzyskanego od 505 kobiet w ciąży z podwyższonym ryzykiem występowania aneuploidii u płodu, poddających się inwazyjnej diagnostyce prenatalnej. Materiałem do badania był płyn owodniowy lub komórki trofoblastu, pobierane podczas rutynowej inwazyjnej procedury diagnostycznej. Autorka, wraz z Zespołem Badaczy wykazała, że: „czułość i specyficzność wykrywania aneuploidii chromosomów 21, 18 i 13 pary wyniosły 100%. Wyniki uzyskano dla każdej analizowanej próbki, co potwierdza czułość badania niezależnie od jakości DNA.”. Doktorantka podkreśla, że „Wyniki badań oraz kilkuletnia praktyka kliniczna potwierdzają przydatność wykorzystania digital PCR w diagnostyce prenatalnej.” W oparciu o wykonane badania stawia następujące



wnioski: „Metoda digital PCR jest niezawodną i czułą metodą identyfikacji nieprawidłowości chromosomowych u płodu oraz jest łatwa w implementacji w rutynowej praktyce klinicznej.” Oraz, że: „Czułość i specyficzność amplifikacji, prosty protokół oraz możliwość istotnej statystycznie, precyzyjnej oceny liczby kopii chromosomów powodują, że rozwiązanie oparte na digital PCR jest niezawodnym, opłacalnym szybkim testem przesiewowym.”

Ostatnią, trzecią Publikację: *Nykel A, Woźniak R, Gach A. The Influence of Maternal Cell Contamination on Fetal Aneuploidy Detection Using Chip-Based Digital PCR Testing. Diagnostics. 2021; 11(9):1607*, poświęcono ocenie „dokładności metody digital PCR do detekcji aneuploidii u płodu w przypadku występowania kontaminacji komórkami maczynymi”.

W wyniki przeprowadzonych badań Autorka, wraz z Zespołem Badaczy wykazała, że: „Digital PCR jest dokładną metodą do detekcji aneuploidii u płodu nawet w przypadku kontaminacji materiałem maczynym na wysokim poziomie.” oraz, że: „Opracowany algorytm eliminuje konieczność przeprowadzania dodatkowych testów w celu identyfikacji kontaminacji, co znacznie redukuje koszty i usprawnia procedury diagnostyczne.”

Wszystkie publikacje ukazały się w recenzowanych czasopismach o wysokim IF. Zarówno podejście metodologiczne, jak i zastosowane metody statystyczne nie budzą zastrzeżeń. Po zapoznaniu się z oświadczeniami Współautorów publikacji, stwierdzam, że wkład Doktorantki w ich przygotowanie był znaczny i w pełni zasadne jest wykorzystanie ich jako cyklu tworzącego pracę doktorską.

Praca doktorska przygotowana przez mgr Annę Nykiel, której Promotorką jest dr hab. n. med. Agnieszka Gach, prof. ICZMP, Kierowniczka Zakładu Genetyki ICZMP, stanowi samodzielne rozwiązanie postawionego problemu badawczego i potwierdza jej wiedzę teoretyczną w zakresie metodologii badań, których dotyczy. Warte jest podkreślenia potencjalna użyteczność tematyki przeprowadzonych badań we wprowadzaniu tej metody diagnostyki laboratoryjnej do szeroko pojętej diagnostyki prenatalnej.

Przed opracowaniem obecnej, ostatecznej wersji recenzji otrzymałem właściwie przygotowaną, oprawioną wersję pracy doktorskiej, uzyskałem też



satysfakcjonujące wyjaśnienia dotyczące przypisania rozprawy do określonej dyscypliny i dziedziny przez Radę Naukową ICZMP.

Przedstawiona praca, pod względem merytorycznym spełnia ustawowe warunki, którym powinna odpowiadać praca doktorska, stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego, potwierdza ogólną teoretyczną wiedzę Kandydatki i jej umiejętność samodzielnego prowadzenia pracy naukowej. Publikacje wchodzące w skład cyklu uzyskały wysoki Impact Factor, co jest niewątpliwym osiągnięciem Doktorantki, przewyższającym wymagania standardowo stawiane Kandydatce do stopnia doktora. Wobec tego pozwalam sobie wystąpić do Wysokiej Rady Naukowej Instytutu „Centrum Zdrowia Matki Polki” w Łodzi, z wnioskiem o wyróżnienie niniejszej rozprawy i dopuszczenie mgr Anny Nykiel do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

prof. dr hab. n. med. Piotr Węgrzyn
specjalista położnictwa, ginekologii, perinatologii i genetyki klinicznej
Kierownik Kliniki Położnictwa, Perinatologii i Ginekologii
Wydział Nauk o Zdrowiu
Warszawski Uniwersytetu Medycznego