

Zakład Diagnostyki Laboratoryjnej i Immunologii Klinicznej Wieku Rozwojowego

Warszawski Uniwersytet Medyczny

Ocena osiągnięcia naukowego oraz działalności naukowej i dydaktycznej dr n. med. Patryka Lipińskiego kandydata do stopnia doktora habilitowanego nauk medycznych

1. Uwagi formalne

Recenzję niniejszą wykonałam w związku powołaniem mnie w skład komisji habilitacyjnej przez Centralną Komisję do Spraw Stopni i Tytułów. Oceny dokonałam według obowiązujących uregulowań prawnych, biorąc pod uwagę przede wszystkim dorobek naukowy i wkład Kandydata w rozwój uprawianej dyscypliny naukowej oraz możliwość samodzielnego prowadzenia badań naukowych.

Podstawą oceny był zbiór opublikowanych artykułów stanowiących rozprawę habilitacyjną, zestaw załączonych dokumentów, w tym omówienie najważniejszych osiągnięć naukowych i tematyki badawczej oraz zwięzłe przedstawienie badań opublikowanych w pracach wchodzących w skład rozprawy habilitacyjnej, a także zestawienie działalności dydaktycznej, wykaz nagród i innych wyróżnień oraz udział w projektach badawczych.

Przesłany mi materiał dokumentacyjny zawiera autoreferat dr n. med. Patryka Lipińskiego omawiający zakres badań i dorobek naukowy Habilitanta, spis publikacji z podanym sumarycznym współczynnikiem oddziaływania publikacji naukowych według listy JCR, liczbę cytowań publikacji według bazy Web of Science z podaniem indeksu Hirscha oraz dodatkowe informacje.

2. Ocena osiągnięcia naukowego pt.: „Charakterystyka kliniczna, biochemiczna i molekularna wrodzonych oraz wtórnych zaburzeń glikozylacji oraz deglikozylacji białek”

Na rozprawę habilitacyjną składa się 12 publikacji, w tym 9 prac oryginalnych i 3 prace poglądowe. Wszystkie publikacje są pracami o autorstwie zespołowym. W 10 pracach Habilitant jest

pierwszym autorem. Jedenaście prac jest opublikowanych w renomowanych międzynarodowych czasopismach posiadających impact factor. Łączny IF cyklu prac wynosi **25,341**; MNiSzW – **570**

Wspólnym mianownikiem cyklu prac są choroby metaboliczne wywołane przez genetyczne defekty zaburzeń glikozylacji białek i lipidów (CGD) oraz wrodzone zaburzenia deglikozylacji (CDDG). Fenotyp tej grupy rzadkich chorób jest różnorodny pod względem klinicznym, biochemicznym i molekularnym. Obecne są objawy ze strony wielu narządów i układów, jednakże wspólną cechą większości CDG jest uszkodzenie neuronów i zaburzenia neurologiczne o różnej ekspresji. Niektóre CGD przebiegają bez zajęcia układu nerwowego, w obrazie klinicznym i biochemicznym dominuje uszkodzenie wątroby i podwyższenie aktywności aminotransferaz. Ultraradkie zaburzenia CDDG charakteryzują się m in.: opóźnieniem rozwoju psychoruchowego, występowaniem ruchów mimowolnych, podwyższoną aktywności aminotransferaz. Metodą diagnostyczną zaburzeń glikozylacji jest metoda ogniskowania izoform transferyny, uważana w przeszłości za złoty standard diagnostyczny CDG. Obecnie pewne rozpoznanie stawia się metodą NGS. W zależności od lokalizacji defektu wyróżnia się dwa typy CDG: I i II. W odróżnieniu od zaburzeń glikozylacji, dla CDDG nie ma biomarkera diagnostycznego, a profil izoform transferyny jest prawidłowy. Pacjenci są również diagnozowani metodą NGS. Głównym celem przeprowadzonych przez Habilitanta badań składających się na osiągnięcie naukowe jest opis fenotypów klinicznych rzadkich chorób, wyników badań biochemicznych oraz wyników badań genetycznych. Badanie było prowadzone na retrospektywnej kohorcie pacjentów leczonych w latach 1995-2021 w IP-CZD.

Publikacja 1. Clinical, biochemical and molecular phenotype of congenital disorders of glycosylation: long-term follow-up.

Celem publikacji była retrospektywna analiza historii chorób 32 pacjentów z rozpoznaniem CDG potwierdzonych badaniem genetycznym. Przeanalizowano charakterystykę kliniczną, biochemiczną (ogniskowanie izoform transferyny) oraz defekty genetyczne tych chorych. U 12 pacjentów rozpoznano deficyt fosfomannomutazy 2 (PMM2-CDG), u pozostałych 20 zaburzenie CDG inne niż PMM2-CDG (non-PMM2-CDG) – ALG13-CDG u 3 pacjentów, ALG1-CDG u 3 pacjentów, ALG3-CDG u 1 pacjenta, MPI-CDG u 3 pacjentów, PGM1-CDG u 1 pacjenta, SRD5A3-CDG u 4 pacjentów, DPAGT1-CDG u 1 pacjenta, ATP6AP1-CDG u 1 pacjenta, ATP6V0A2-CDG u 1 pacjenta. Wszyscy pacjenci z PMM2-CDG prezentowali objawy ze strony ośrodkowego układu nerwowego oraz objawy narządowe (fenotyp neurologiczno-trzewny) o wczesnym początku (w okresie niemowlęcym). U 2 pacjentów stwierdzono nieimmunologiczny obrzęk płodu. Do objawów/cech klinicznych i biochemicznych, które odnotowano statystycznie częściej w grupie pacjentów z PMM2-CDG niż non-PMM2-CDG zaliczono: ataksję mózdkową, wciągnięte brodawki sutkowe, niedoczynność tarczycy, wysięk w osierdziu, kardiomiopatię, niedobór masy ciała i wzrostu. W grupie pacjentów z PMM2-CDG, analiza izoform transferyny wykazała wzrost procentowego udziału frakcji asjalo- i disjalo-transferyny oraz spadek

procentowego udziału frakcji tetrasjalo-transferyny. Opisano też różnorodne objawy kliniczne. W tym po raz pierwszy w literaturze opisano nieimmunologiczny obrzęk płodu w przebiegu ATP6AP1-CDG. Zaburzenie to zostało zdiagnozowane u 3 chłopców z jednej rodziny (dziedziczenie sprzężone z X) i zostało scharakteryzowane fenotypowo.

Publikacja 2. ATP6AP1-CDG: Follow-up and female phenotype.

Publikacja podsumowała wieloletnią obserwację kliniczną pacjentów z zaburzeniem ATP6AP1-CDG zwracając uwagę na specyficzne cechy fenotypowe. Wartością tej publikacji jest zwrócenie uwagi na uwzględnienie CDG w diagnostyce różnicowej u chłopców z niedosłuchem, utratą włosów i białkomoczem.

Publikacja 3. Congenital disorders of glycosylation: Prevalence, incidence, and mutational spectrum in the Polish population.

Celem pracy była ocena częstości występowania CDG w Polsce. W latach 1995-2020 rozpoznanie CDG (na podstawie badania izoform transferyny metodą IEF oraz analizy molekularnej) postawiono u 39 pacjentów (z 35 rodzin), z czego u 17 (44%) z nich stwierdzono deficyt fosfomannomutazy 2 (PMM2-CDG). PMM2-CDG stanowiło najczęstsze zaburzenie CDG w Polsce, podobnie jak w literaturze. Częstość występowania CDG w Polsce oszacowano na 1 przypadek na milion, podczas gdy PMM2-CDG 0.3 na milion. Biorąc pod uwagę wyniki raportowane w literaturze, częstość występowania CDG w Polsce jest prawdopodobnie niedoszacowana. Słuszna wydaje się opinia, że istnieje duża grupa zaburzeń CDG leczonych w innych ośrodkach niż CZD lub nie rozpoznanych. Zatem celowe jest zwracanie uwagi na tę grupę chorób i szerzenie wiedzy w tym zakresie wśród lekarzy pediatrów. Podłoże genetyczne choroby określono w przypadku 17 pacjentów. Wyniki są zgodne z doniesieniami innych autorów.

Publikacja 4. Liver involvement in congenital disorders of glycosylation and deglycosylation.

Publikacja 5. Congenital disorders of glycosylation in children - Histopathological and ultrastructural changes in the liver.

Celem obu publikacji była ocena zmian w wątrobie w grupie 32 pacjentów z rozpoznaniem CDG lub NGLY1-CDDG potwierdzonym genetycznie. Podsumowano obraz kliniczny, wyniki badań biochemicznych oceniających funkcje wątroby oraz obraz histopatologiczny wątroby na podstawie materiału biopsyjnego lub autopsyjnego. Izolowane zajęcie wątroby stwierdzono u 3 pacjentów z MPI-CDG (dwójka rodzeństwa). U pozostałych pacjentów dominował fenotyp poza-wątrobowy. Na podstawie powyższych obserwacji wysnuto wnioski, że zajęcie wątroby w przebiegu CDG zwykle jest mało istotne z punktu widzenia klinicznego, z wyjątkiem MPI-CDG (izolowane zajęcie wątroby oraz możliwość leczenia przyczynowego mannozą), PGM1-CDG (zajęcie wątroby i serca oraz możliwe leczenie przyczynowe galaktozą) oraz wczesnej postaci PMM2-CDG (możliwa niewydolność wątroby).

w przebiegu niewydolności wielonarządowej). Poza wpływem leczenia przyczynowego (suplementacja mannozą w MPI-CDG, galaktoza w PGM1-CDG), w długofalowej obserwacji pacjentów z CDG dochodzi do samoistnej normalizacji aktywności aminotransferaz.

Publikacja 6. Anthropometric phenotype of patients with PMM2-CDG.

W publikacji oceniono rozwój dzieci z PMM2-CDG, wyznaczając wzorzec ich rozwoju, który znacząco odbiega od wzorca wzrastania dzieci zdrowych. W publikacji porównano urodzeniową długość i masę ciała z normami populacyjnymi i wykazano, że noworodki z PMM2-CDG rodzą się statystycznie istotnie dłuższe niż noworodki w zdrowej populacji. Patomechanizm tego zjawiska nie jest poznany. Jednakże tempo wzrastania maleje w pierwszych latach życia. Podobny, ujemny trend, zaobserwowano dla tempa przyrostu obwodu głowy i indeksu BMI. Co ciekawe, w grupie pacjentów z PMM2-CDG szybciej odnotowywano zahamowanie przyrostu obwodu głowy niż długości ciała.

Publikacja 7. Transferrin gene polymorphisms alter the transferrin focusing pattern, making congenital disorder of glycosylation diagnosis difficult.

Celem publikacji była identyfikacja polimorfizmów w genie transferyny. Spośród 22183 próbek izoform transferyny od pacjentów pediatrycznych, badanych w latach 1995-2020 CDG, u 55 pacjentów (0.2%) stwierdzono izolowany wzrost procentowego udziału izoformy pentasjalo-transferyny, a u 15 pacjentów (0.06%) izolowany wzrost procentowego udziału izoformy trisjalo-transferyny. Badanie WES zostało przeprowadzone w grupie 4 pacjentów z izolowanym podwyższeniem odsetka frakcji pentasjalo-transferyny oraz u rodziców pacjentów (n=4), u których zidentyfikowano taki sam wzór izoform. W badanej grupie stwierdzono obecność 2 polimorfizmów w genie kodującym transferynę: c.2012G>A, p.Gly671Glu (3 probandów) oraz c.1027C>A, p.Arg343Trp (1 proband). Obecność polimorfizmów w genie transferyny jest potwierdzona przez innych autorów. Niemniej jednak, publikacja dostarczyła informacji dotyczących korelacji wzorca izoform transferyny metodą IEF, a obecnością polimorfizmów w genie transferyny. Badania genetyczne stanowią najważniejsze narzędzie w diagnostyce zaburzeń glikozylacji.

Publikacja 8. Pediatric Liver Disease Patients and Secondary Glycosylation Abnormalities.

Celem publikacji była analiza wtórnych do dysfunkcji wątroby zaburzeń glikozylacji manifestujących się nieprawidłowym wzorcem izoform transferyny. Powszechnie znanym faktem jest hipoglikozylacja transferyny w zaburzeniach czynności wątroby, jednakże

publikacja po raz pierwszy odnosi się do populacji pediatrycznej. W latach 1995-2019 dokonano analizy ok. 2 000 próbek izoform transferyny od pacjentów z zaburzeniami czynności wątroby. Do badania włączono 19 pacjentów z pierwotną chorobą wątroby i wtórnym nieprawidłowym wzorcem izoform transferyny. Analiza profilu izoform transferyny wykazała wzrost procentowego odsetka asjalo- i monosjalo-transferyny u wszystkich pacjentów oraz disjalo-transferyny u większości (12/14) pacjentów z ostrym uszkodzeniem/ostrą niewydolnością wątroby. Analiza statystyczna nie wykazała korelacji pomiędzy poszczególnymi izoformami transferyny a parametrami biochemicznymi funkcji wątroby w grupie pacjentów z ostrym uszkodzeniem/ostrą niewydolnością wątroby. Z kolei, w grupie pacjentów z przewlekłą chorobą wątroby, wykazano istnienie korelacji istotnych statystycznie pomiędzy INR i monosjalo-transferyną oraz INR i tetrasjalo-transferyną. Biorąc pod uwagę fakt, iż większość (60%) tej grupy stanowili pacjenci z cholestatyczną chorobą wątroby, a w tej grupie zaburzenia krzepnięcia pojawiają się w miarę czasu trwania i postępu choroby, analiza izoform transferyny może stanowić wtórny biomarker postępu przewlekłej cholestatycznej choroby wątroby.

Publikacja 9. Congenital Disorders of Glycosylation: What Clinicians need to know?

To praca poglądowa przedstawiająca podsumowanie wiedzy w zakresie wrodzonych zaburzeń glikozylacji (CDG). Celem pracy była charakterystyka manifestacji klinicznych, diagnostyki oraz leczenia CDG. Przedstawiona została własna propozycja algorytmu diagnostycznego CDG. Podkreślono znaczenie badania profilu izoform transferyny metodą izoelektroogniskowania (IEF) jako metody z wyboru, stanowiącej „złoty standard” w diagnostyce CDG. Przypomniano, że wynik badania może być prawidłowy. Najlepszą obecnie metodą weryfikacji rozpoznania klinicznego i biochemicznego, a także identyfikacji nowych zespołów CDG jest sekwencjonowanie nowej generacji (NGS).

Publikacja 10. NGLY1 deficiency: Novel patient, review of the literature and diagnostic algorithm.

W publikacji przedstawiono opis pierwszego w Polsce pacjenta z deficytem N-glikanazy 1. Na podstawie własnych obserwacji oraz przeglądu piśmiennictwa Habilitant zaproponował schemat diagnostyczny. Podkreślono, że NGLY1-CDDG należy rozważyć u pacjentów z opóźnieniem rozwoju psychoruchowego oraz hiperkinetycznymi ruchami mimowolnymi i/lub brakiem/zmniejszonym wydzielaniem łez. Obecność podwyższonej aktywności aminotransferaz w surowicy dodatkowo przemawia za podejrzeniem choroby. Potwierdzenie rozpoznania wymaga identyfikacji wariantów

patogennych w genie *NGLY1*. Jedną z częściej opisywanych mutacji (ok. 30% pacjentów) jest mutacja c.1201A>T (p.Arg401X); jej obecność na co najmniej 1 allelu może wiązać się z cięższym przebiegiem choroby.

Publikacja 11. Liver involvement in NGLY1 congenital disorder of deglycosylation.

Celem publikacji była charakterystyka kliniczna, biochemiczna i histopatologiczna NGLY1-CDDG w wątrobie na podstawie opisu przypadku. Zauważono, że NGLY1-CDDG należy rozważyć w diagnostyce pacjentów z marskością wątroby o nieznannej etiologii, zwłaszcza u których w obrazie histopatologicznym biopsji wątroby obecna jest akumulacja amorficznej substancji w obrębie cytozolu hepatocytów.

Publikacja 12. Wrodzone zaburzenie deglikozylacji związane z deficytem N-glikanazy 1.

Praca poglądowa stanowi podsumowanie dotychczasowej wiedzy i doświadczenia klinicznego habilitanta w zakresie wrodzonych zaburzeń deglikozylacji (CCDG). W pracy dokonano przeglądu piśmiennictwa w zakresie charakterystyki manifestacji klinicznej, diagnostyki oraz leczenia NGLY1-CCDG.

Podsumowując, obserwacje Habilitanta są cennym źródłem wiedzy o wybranych chorobach rzadkich. Przedstawione do oceny publikacje będą stanowiły zbiór ważnych informacji o tych chorobach i pomoc klinicystom, którzy zetkną się takimi pacjentami w swojej praktyce, szczególnie pediatrom i neurologom dziecięcym. Przedstawione prace pokazują także w jaki sposób na przestrzeni lat dokonał się postęp medycyny, a techniki NGS zrewolucjonizowały genetykę kliniczną i zmieniły klasyczne podejście do chorych z chorobami rzadkimi. Pomimo istniejących barier, NGS staje się istotnym elementem całościowej, spersonalizowanej opieki nad pacjentem. Sekwencjonowanie genomu otwiera nowe możliwości pomocy chorym na rzadkie, nierozpoznane choroby lub nieodpowiadające na standardową terapię. Nie do końca zgadzam się z habilitantem, że badanie profilu izoform transferyny metodą izoelektroogniskowania (IEF) jest metodą z wyboru, stanowiącą „złoty standard” w diagnostyce CDG. Metodą z wyboru i pierwszym badaniem jakie należy wykonać u dziecka z podejrzeniem ciężkiej choroby metabolicznej jest badanie szerokiego panelu genów lub wręcz wykonanie WES. Metody biochemiczne stanowią cenne uzupełnienie badań genetycznych ale na ogół nie potwierdzają w sposób pewny ostatecznego rozpoznania, co zauważa sam Habilitant pisząc o różnorodności objawów klinicznych i biochemicznych u pacjentów z takim samym rozpoznaniem. Badania biochemiczne to także długotrwały i kosztochłonny proces. Niemniej jednak dogłębna analiza, również biochemiczna, stosunkowo dużej grupy dzieci z CGD jest niezwykle wartościowa, nie tylko dla lekarzy ale również rodziców tych dzieci, pokazując jakich problemów można się spodziewać w toku rozwoju dziecka i jak

sobie z nimi radzić np. poprzez odpowiednie zalecenia dietetyczne. Ciekawa jest propozycja algorytmu diagnostycznego w przypadku CGD, jednakże aby w pełni ocenić przydatność algorytmu należałoby go zwalidować z stosunku do obowiązujących w innych ośrodkach metod postępowania.

Do najbardziej istotnych osiągnięć Habilitanta zaliczam:

1. Scharakteryzowanie oraz przesledzenie rozwoju i rokowania dzieci chorych na CDG.
2. Wskazanie na przydatność izoform transferryiny w monitorowaniu leczenia wybranych CDG (MPI-CDG, PGM1-CDG).
3. Propozycję algorytmu diagnostycznego CDG ORAZ NGLY1-CDDG.
4. Ocenę zmian w wątrobie w CDG i NGLY1-CDDG.
5. Ocenę zaburzeń glikozylacji w przebiegu chorób wątroby u dzieci.
6. Identyfikację 2 polimorfizmów w genie transferryiny (c.2012G>A, p.Gly671Glu; c.1027C>A, p.Arg343Trp) u pacjentów z izolowanym podwyższeniem odsetka frakcji pentasjalo-transferyny.

3. Ocena dorobku naukowego i dydaktycznego Habilitanta

3a. Charakterystyka dorobku naukowego

Analiza osiągnięć naukowo-badawczych Habilitanta wykazała, że kandydat posiada bardzo dobry dorobek naukowy. Łącznie jest autorem lub współautorem 22 prac oryginalnych opublikowanych w renomowanych czasopismach o zasięgu międzynarodowym, 35 prac poglądowych, 11 opisów przypadków, 8 rozdziałów w podręcznikach. Sumaryczny IF opublikowanych prac wynosi 125,541; liczba cytowań (wszystkich prac, łącznie z włączonymi do rozprawy habilitacyjnej) wynosi 108, Indeks Hirscha 7. Wszystkie prace są zogniskowane wokół tematyki chorób rzadkich u dzieci. Jednym z głównych tematów badawczych to choroby przewodu pokarmowego u dzieci, w tym choroby wątroby i dróg żółciowych, choroby zapalne jelit, zaburzenia metaboliczne. Tematem wiodącym pozostałych prac Habilitanta są zagadnienia związane z obrazem klinicznym, zaburzeniami biochemicznymi, genetyką oraz diagnostyką i terapią wybranych chorób rzadkich, głównie chorób przewodu pokarmowego. Niektóre doniesienia są opisami rzadkich i ultrarzadkich przypadków chorób, często są to jedyne przypadki opisane w Polsce. Współpraca z Zakładem Genetyki WUM pozwoliła habilitantowi poszerzyć wiedzę w zakresie podłoża genetycznego tych chorób.

Habilitant brał czynny udział w realizacji szeregu projektów naukowych finansowanych ze środków CZD oraz w badaniach klinicznych. Szkolił się podczas 4 kursów zagranicznych. Uczestniczył w kilku krajowych i międzynarodowych konferencjach, gdzie prezentował wyniki swoich prac. Uczestniczył również w konsorcjum NAPPED. Brak informacji o kierownictwie grantów zewnętrznych i dłuższych zagranicznych stażach naukowych a także nagrodach i wyróżnieniach za działalność naukową.

3b. Charakterystyka dorobku dydaktyczno-wychowawczego

W autoreferacie brak informacji na temat dorobku dydaktyczno-wychowawczego.

4. Wniosek końcowy

Na podstawie szczegółowej analizy rozprawy habilitacyjnej oraz dorobku naukowego, i zawodowego stwierdzam, że dr n. med. Patryk Lipiński:

- przedłożył do oceny osiągnięcie naukowe pt. **”Charakterystyka kliniczna, biochemiczna i molekularna wrodzonych oraz wtórnych zaburzeń glikozylacji oraz deglikozylacji białek”**, które stanowi wkład Habilitanta w rozwój nauk medycznych;
- ma udokumentowany, oryginalny dorobek naukowy, który spełnia wymagania stawiane Kandydatom ubiegającym się o stopień naukowy doktora habilitowanego;
- wygłaszał referaty na międzynarodowych oraz krajowych konferencjach;

W oparciu o przedstawioną analizę stwierdzam, że przedstawione do recenzji spójne tematycznie osiągnięcie oraz dorobek naukowy i dydaktyczny Dr n. med. Patryka Lipińskiego spełnia kryteria uprawniające do nadania stopnia doktora habilitowanego w dziedzinie medycyny. Kandydat jest aktywnym naukowcem, otwartym na nowe obszary badań, pełnym pasji w prowadzeniu badań naukowych. Jego dorobek naukowy, liczba publikacji, w które był i jest zaangażowany świadczą o dobrym przygotowaniu Habilitanta do prowadzenia samodzielnej pracy naukowo-badawczej. Tym samym popieram wniosek Dr n. med. Patryka Lipińskiego o nadanie stopnia naukowego doktora habilitowanego nauk medycznych.

Prof. dr hab n. med. Urszula Demkow

