

Recenzja rozprawy doktorskiej mgr inż. Justyny Anny Karolak pt. **Złożoność aspektów genetycznych w wieloczynnikowych chorobach narządu wzroku - stożku rogówki oraz wysokiej krótkowzroczności** w związku z powierzeniem obowiązków recenzenta przez Radę Wydziału Farmaceutycznego Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

Przedstawiona do recenzji rozprawa została przygotowana w formie zbioru monotematycznych prac, formie dopuszczonej w Ustawie z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. Nr 65, poz. 595, z późn. zm.). Zgodnie z Art. 13. 1. Rozprawa doktorska, przygotowywana pod opieką promotora powinna stanowić oryginalne rozwiązanie problemu naukowego oraz wykazywać ogólną wiedzę teoretyczną kandydata w danej dyscyplinie naukowej oraz umiejętność samodzielnego prowadzenia pracy naukowej. 2. Rozprawa doktorska może mieć formę maszynopisu książki, książki wydanej lub spójnego tematycznie zbioru rozdziałów w książkach wydanych, spójnego tematycznie zbioru artykułów opublikowanych lub przyjętych do druku w czasopismach naukowych, określonych przez ministra właściwego do spraw nauki na podstawie przepisów dotyczących finansowania nauki, jeżeli odpowiada warunkom określonym w ust. 1. W moim odczuciu rozprawa w pełni spełnia wymagania ustawowe i może stanowić podstawę ubiegania się o nadanie stopnia doktora nauk farmaceutycznych.

Rozprawa doktorska została wykonana pod kierunkiem dr hab. Marzeny Gajęckiej, prof. UMP w Zakładzie Mutagenezy Środowiskowej Instytutu Genetyki Człowieka PAN w Poznaniu oraz w Katedrze i Zakładzie Genetyki i Mikrobiologii Farmaceutycznej Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu.

Temat rozprawy doktorskiej uważam za bardzo nowatorski, mieszczący się w głównym nurcie zainteresowań badaczy zajmujących się podłożem molekularnym chorób człowieka. Jest logicznym rozwinięciem badań prowadzonych uprzednio przez zespół Pani Promotor. Badania te przysporzyły wielu sukcesów a przedstawiona do recenzji rozprawa jest tego najlepszym przykładem. Zmiany w budowie gałki ocznej prowadzą do upośledzenia widzenia i ze względu na złożoność i wieloczynnikowe podłoże zarówno stożka rogówki, jak i wysokiej krótkowzroczności, przedmiotem badań rozprawy doktorskiej były obydwie zaburzenia funkcji narządu wzroku. W przebiegu stożka rogówki dochodzi do zmian rogówki, z kolei wysoka krótkowzroczność objawia się niezdolnością oka do tworzenia prawidłowego obrazu. Choroby te cechują się występowaniem patologicznych zmian w oku, co znacznie obniża jakość widzenia.

Cel badań został jasno sformułowany. Było nim poznanie czynników genetycznych zaangażowanych w etiologię stożka rogówki i wysokiej krótkowzroczności, a także próba ustalenia związku pomiędzy tymi czynnikami, a występowaniem fenotypu choroby. Słusznie założono, że w patogenezie tych zaburzeń biorą udział różne geny, w których równocześnie występują warianty struktury. Badania z wykorzystaniem technik biologii molekularnej przeprowadzono w ekwadorskiej i polskiej grupie pacjentów ze stożkiem rogówki, a także wśród członków polskich rodzin z wysoką krótkowzrocznością.

Doktorantka przedstawiła jako rozprawę 7 prac ściśle dotyczących tematu rozprawy.

1. Karolak JA, Kulinska K, Nowak DM, Pitarque JA, Molinari A, Rydzanicz M, Bejjani BA, Gajęcka M. Sequence variants in COL4A1 and COL4A2 genes in Ecuadorian families with keratoconus. *Mol Vis.* 2011; 17:827-843. IF=2,511; MNiSW=25
2. Rosenfeld JA, Drautz JM, Clericuzio CL, Cushing T, Raskin S, Martin J, Tervo RC, Pitarque JA, Nowak DM, Karolak JA, Lamb AN, Schultz RA, Ballif BC, Bejjani BA, Gajęcka M, Shaffer LG. Deletions and duplications of developmental pathway genes in 5q31 contribute to abnormal phenotypes. *Am J Med Genet A.* 2011; 155A(8):1906-1916. IF=2,505; MNiSW=20
3. Rydzanicz M, Nowak DM, Karolak JA, Frajdenberg A, Podfigurna-Musiak M, Mrugacz M, Gajęcka M. IGF-1 gene polymorphisms in Polish families with high-grade myopia. *Mol Vis.* 2011; 17:2428-2439. IF=2,511; MNiSW=25
4. Czugała M*, Karolak JA*, Nowak DM, Polakowski P, Pitarque J, Molinari A, Rydzanicz M, Bejjani BA, Yue BY, Szaflik JP, Gajęcka M. Novel mutation and three other sequence variants segregating with phenotype at keratoconus 13q32 susceptibility locus. *Eur J Hum Genet.* 2012; 20(4):389-397. *Autorzy równorzędni. IF=4,400; MNiSW=35
5. Nowak DM*, Karolak JA*, Kubiak J, Gut M, Pitarque JA, Molinari A, Bejjani BA, Gajęcka M. Substitution at IL1RN and deletion at SLC4A11 segregating with phenotype in familial keratoconus. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2013; 54(3):2207-2215. *Autorzy równorzędni. IF=3,411; MNiSW=40
6. Karolak JA, Szaflik JP, Gajęcka M. Etiologia stożka rogówki i molekularne aspekty choroby – aktualny stan wiedzy. *Okulistyka.* 2012; 3:9-13. MNiSW=4
7. Karolak JA, Nowak DM, Gajęcka M. Complexity of genetics in keratoconus. *Annual Report Polish Academy of Sciences.* 2012; 89-91.

Pięć prac to prace oryginalne, a kolejne to jedna praca przeglądowa i jeden raport z badań. Sześć prac ukazało się w czasopiśmie recenzowanych o szerokim zasięgu, w tym 5 w czasopiśmie międzynarodowych. Łączny IF prac wchodzących w skład rozprawy wynosi

15,338, a suma punktów ministerialnych 149. Recenzent ma bardzo ułatwione zadanie ponieważ większość prac była już recenzowana i zdobyła uznanie, o czym świadczy ich opublikowanie. Ważnym elementem oceny rozpraw tego typu jest ocena formalna. W moim odczuciu, obawiam się, że Doktorantka bardzo wysoko zawiesiła poprzeczkę i dla innych Doktorantów przedstawienie tak dobrego zestawu publikacji może stanowić dużą trudność.

Doktorantka spełniła wszystkie wymogi zamieszczając opis osiągnięcia wraz z komentarzem dotyczącym wszystkich publikacji, streszczenia w języku polskim i angielskim, piśmiennictwo i oświadczenia współautorów publikacji. Pewien ogólny problem pojawia się z ewentualnym użyciem prac do przygotowania prac promocyjnych przez innych współautorów tych prac. Sądzę, że w przyszłości zostanie utworzona baza danych, w której będą zamieszczone publikacje użyte do uzyskiwania na ich podstawie stopni naukowych.

W spisie publikacji Doktorantka zamieściła również swoje prace, ładnie się przy tym autopromując. Drobne nieścisłości - nazwy genów piszemy kursywą, warto byłoby również sformułować wnioski. Po lekturze rozprawy nasuwają się następujące zapytania – Co uzasadnia wybór genów do analiz wykonanych w ramach rozprawy? Jakie są możliwości kontynuacji badań? Który z czynników środowiskowych może mieć decydujący wpływ na występowanie badanych chorób?

Uzyskane przez Doktorantkę wyniki potwierdzają hipotezę, zakładającą kompleksowość i udział wielu genów w powstawaniu stożka rogówki i wysokiej krótkowzroczności. Przeprowadzone badania dostarczyły informacji o nieopisywanych dotąd aspektach genetycznych wieloczynnikowych chorób narządu wzroku. Za najważniejsze osiągnięcie rozprawy uznaję wykrycie w rodzinie z Ekwadoru, obciążonej stożkiem rogówki, pochodzącej, nowej mutacji c.2262A>C (Gln754His) w genie *DOCK9* oraz trzy warianty sekwencji nukleotydowej w genach *DOCK9*, *IPO5* i *STK24*, segregujące z fenotypem choroby. Równie ważne jest zidentyfikowanie w drugiej rodzinie ekwadorskiej substytucji c.214+242C>T w genie *IL1RN* oraz nowej delecji c.2558+149_2558+203 w genie *SLC4A11*. Powyższe warianty sekwencji, nie są powiązane w populacji ekwadorskiej z występowaniem choroby w populacji ogólnej. Analiza licznych genów *COL4A2*, *IL1A*, *IL1B*, *PITX1*, *TGFBI*, *IL9*, *MBNL1*, *FARP1*, *RNF113B*, *ZIC5* oraz *ZIC2* w ekwadorskich rodzinach ze stożkiem rogówki oraz genu *IGF-1* w polskich rodzinach z wysoką krótkowzrocznością, nie potwierdziła ich udziału w patogenezie chorób w badanych populacjach.

Na podkreślenie, a zarazem uznanie, zasługuje nowoczesne dobranie metod badawczych. Można je określić jako odpowiadające współczesnym standardom światowym. Doktorantka umiejętnie stosowała badania na poziomie komórkowym, standardowe badania

molekularne, po czym przeszła do badań macierzowych. Wykorzystanie tych metod na pewno przyczyniło się do zamieszczenia wyników w renomowanych czasopismach, a przede wszystkim umożliwiło Doktorantce rozszerzenie warsztatu badawczego.

Przedstawiona do oceny rozprawa pt. „**Złożoność aspektów genetycznych w wieloczynnikowych chorobach narządu wzroku - stożku rogówki oraz wysokiej krótkowzroczności**” dobrze wpisuje się w badania molekularnego podłoża chorób człowieka. W związku z tym wybór tematu rozprawy doktorskiej mgr Justyny Karolak, uważam za trafny i istotny. Podjęcie takiej tematyki nie byłoby możliwe bez doświadczenia, kontaktów i możliwości badawczych zespołu kierowanego przez prof. Marzenę Gajęcką.

Po zapoznaniu się z rozprawą doktorską stwierdzam, że Autorka przygotowała bardzo ciekawą rozprawę. Powyższe wnioski upoważniają mnie do zwrócenia się do Rady Wydziału Farmaceutycznego Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu o dopuszczenie mgr inż. Justyny Karolak do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Ze względu na całościowe opracowanie zagadnienia i opublikowanie w renomowanych czasopismach wnioskuję o wyróżnienie rozprawy.



Prof. dr hab. Ryszard Słomski

Poznań, 30.03.2014 r.

e-mail slomski@up.poznan.pl, <http://www.up.poznan.pl/~slomski/>