



UNIwersYTET MEDYCZNY

IM. PIASTÓW ŚLĄSKICH WE WROCLAWIU

Wrocław, 24. 12. 2018

Recenzja

rozprawy doktorskiej pani lek. Agnieszki Gaczkowskiej
pt. „ Rola czynników genetycznych w etiologii najczęstszych wad rozwojowych twarzo-
czaszki: izolowanych rozszczepów wargi i podniebienia oraz wrodzonego braku zawiąz-
ków zębów stałych”

przygotowana na podstawie decyzji

Rady I Wydziału Lekarskiego

Uniwersytetu Medycznego im Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska pani lek. Agnieszki Gaczkowskiej jest wynikiem badań nad etiologią genetyczną izolowanych rozszczepów wargi połączonych lub nie z rozszczepem podniebienia oraz wrodzonego braku zawiązków zębów stałych w populacji polskiej. Autorka podjęła się badań nad tym problemem w celu pogłębienia wiedzy nad etiologią i patogenezą wad rozwojowych wargi, podniebienia i zębów. Na szczególne podkreślenie zasługuje fakt wykorzystania w pracy doktorantki badań asocjacyjnych w skali całego genomu (GWAS – Genome-wide Association Studies). Dotychczas na świecie przeprowadzono zaledwie kilka analiz GWAS dla populacji pacjentów z wadą rozszczepową wargi i podniebienia. Przewód doktorski przeprowadzony był na Uniwersytecie Medycznym w Poznaniu, w Katedrze i Zakładzie Biochemii i Biologii Molekularnej pod kierunkiem dr hab. n. med. Adrianny Mostowskiej.

Definicja wrodzonej wady rozwojowej jest bardzo szeroka i obejmuje każdą nieprawidłowość anatomiczną obecną przy urodzeniu. Mając na uwadze złożoność i precyzję

prawidłowego rozwoju człowieka oraz wielość procesów zachodzących w okresie zarodkowym i płodowym należy przyjąć, że do wystąpienia wady wrodzonej może dojść wskutek zaburzenia każdej integralnej części skomplikowanego procesu rozwoju człowieka. Duża część spośród czynników etiologicznych wad rozwojowych to izolowane czynniki genetyczne (chromosomowe lub jednogenowe) lub czynniki poligenowe połączone z czynnikami środowiskowymi (dziedziczenie wieloczynnikowe). W około 30-40% wad rozwojowych nie znany jest czynnik etiologiczny.

Częstość występowania wad wrodzonych wśród noworodków żywo urodzonych wynosi w krajach rozwiniętych około 2-3%, zaś wśród martwo urodzonych do 10%. Natomiast ponad 50% płodów z ciężkimi wadami rozwojowymi ulega obumarciu i poronieniu we wczesnym okresie trwania ciąży. Z uwagi na poprawę opieki pre- i perinatalnej oraz zmniejszającą się liczbę ciężkich infekcji, urazów, negatywnego działania czynników środowiskowych na płód i noworodka, od kilku dekad wady wrodzone i zespoły dysmorficzne są coraz częstszą przyczyną hospitalizacji dzieci w oddziałach neonatologicznych czy pediatrycznych oraz wizyt ambulatoryjnych stanowiąc tym samym poważny problem diagnostyczny i terapeutyczny.

Rozszczep wargi i podniebienia (RWP) występuje z częstością około 1:1000 urodzeń rasy kaukaskiej, częściej u płci męskiej. Zaburzenia, które występują u pacjentów z rozszczepem wargi i/lub podniebienia dotyczą ssania, połykania, oddychania i mowy. Ponadto rozszczep wyrostka zębodołowego, czy jego zniekształcenie powoduje zaburzenia wzrostu zębów i wady zgryzu. U pacjentów z rozszczepem wargi i/lub podniebienia zwiększona jest skłonność do stanów zapalnych gardła, uszu i górnych dróg oddechowych. RWP są wadami wywierającymi bardzo istotny wpływ na rozwój osobowości dziecka. Wady te wymagają wieloletniego specjalistycznego leczenia zespołowego. U około 10-15% dzieci z RWP występują inne wady rozwojowe (wady serca, układu kostnego, ośrodkowego układu nerwowego).

Etiologia izolowanych RWP jest wieloczynnikowa, oprócz działania czynników genetycznych istotną rolę pełnią czynniki środowiskowe. Ponadto RWP jest schorzeniem heterogennym genetycznie. Brak jednego wzorca dziedziczenia. Współistnienie różnych chorób genetycznych, występowanie mutacji w różnych genach u pacjentów z RWP potwierdzają genetyczną heterogenność tej choroby.

Ocena pracy doktorskiej:

Ocena dysertacji obejmowała ocenę merytoryczną i metodologiczną pracy oraz podsumowanie i wnioski końcowe.

Rozprawa doktorska pani Agnieszki Gaczkowskiej została skonstruowana na podstawie pięciu publikacji. Przedstawiona do recenzji praca obejmuje 10 treściwych stron z podziałem na wstęp, cel pracy, analizę materiału badawczego, metodologię badań, omówienie wyników i wnioski dla poszczególnych publikacji, a także streszczenie w języku angielskim oraz bibliografię. Autorka dołączyła do pracy pięć publikacji, które stanowią podstawę rozprawy doktorskiej. W załącznikach doktorantka zaprezentowała liczne oświadczenia współautorów określające indywidualny wpływ każdego z autorów na powstanie poszczególnych publikacji (co nie pozostawia wątpliwości o wystarczającej samodzielności pracy doktorantki nad swoim projektem doktorskim) z wyrażeniem zgody na wykorzystanie powyższych artykułów naukowych w przewodzie doktorskim Pani Agnieszki Gaczkowskiej oraz oświadczenie Komisji Bioetycznej przy Uniwersytecie Medycznym w Poznaniu. Doktorantka zacytowała 34 pozycje literatury, właściwie dobrane i aktualne, dotyczące sedna poruszanych zagadnień. Cytowane publikacje dowodzą znajomości przez Doktorantkę literatury przedmiotu oraz umiejętności korzystania z licznych i różnorodnych źródeł wiedzy.

We Wstępie autorka przedstawiła epidemiologię i etiologię rozszczepów wargi i rozszczepów podniebienia oraz wrodzonego braku zawiązków zębów stałych. Na uwagę zasługuje przedstawienie problematyki czynników środowiskowych wpływających na powstanie w/w wad rozwojowych. Wstęp stanowi rzetelne, aczkolwiek krótkie omówienie poruszanych zagadnień, w oparciu o szeroką i aktualną literaturę i pozwala czytelnikowi na zapoznanie się z problemami, na których Doktorantka skupia się w swojej pracy badawczej. Przedstawiona wnikliwa analiza aktualnej literatury nie pozostawia wątpliwości, że decyzja Doktorantki o kierunku prowadzonych badań jest w pełni uzasadniona zakresem obecnej wiedzy, zarówno z naukowego, jak i klinicznego punktu widzenia.

Założenia i cel główny oraz cele szczegółowe rozprawy doktorskiej pani Agnieszki Gaczkowskiej zostały sformułowane logicznie, spójnie i konkretnie, co potwierdza dojrzałość naukową Doktorantki. Z punktu widzenia lekarza genetyka klinicznego i pediatry, badania podjęte przez Doktorantkę mają szerokie implikacje kliniczne. Podejście do zagadnienia jakie prezentuje Doktorantka świadczy o bardzo dojrzałym naukowo potraktowaniu tematu.

Przedstawiona zasadnicza część pracy doktorskiej jest analizą pięciu publikacji. Spośród pięciu publikacji Doktorantka jest pierwszym autorem w czterech, w jednej pracy jest drugim autorem. Cztery zaprezentowane prace są artykułami oryginalnymi obejmujących w/w tematykę, opublikowanymi w czasopiśmie z czynnikiem wpływu 8,202. Jedna praca ma charakter poglądowy podsumowując wiedzę doktorantki nad tematyką etiologii molekularnej niesyndromicznych wad rozszczepowych twarzy i ust oraz agenezji zębów.

Pierwsza praca (**De novo EDA mutations: Variable expression in two Egyptian families**). Praca została opublikowana w Arch Oral Biol. 2016, IF 1,748, MNiSW 30 pkt) przedstawia opis kliniczny i molekularny dwóch egipskich chłopców z dysplazją ektodermalną i oligodoncją oraz mutacją *de novo* w genie EDA ze słuszną sugestią, że gen EDA jest genem kandydującym dla wad rozwojowych zębów stałych.

Przedmiotem kolejnej pracy były badania asocjacyjne u pacjentów z izolowanym rozszczepem wargi połączonego lub nie z rozszczepem podniebienia, które skupiały się na analizie wariantów typu SNP w genie *DLX1* (**Polymorphic variants in the DLX1 gene and the risk of non-syndromic cleft lip with or without cleft palate**). Praca została opublikowana w J Med. Sci 2016 (MNiSW 10 pkt). Praca ma charakter oryginalny i cechuje się dużą dojrzałością naukową. Z pracy zostały wyciągnięte krytyczne wnioski o potencjalnym, ochronnym znaczeniu wariantów polimorficznych w sekwencjach kodujących genu *DLX1* w etiologii izolowanych rozszczepów wargi i podniebienia oraz potrzebie dalszych badań nad rolą genu *DLX1* w etiologii omawianych wad.

Trzecia praca (**Common variants in DLG1 locus are associated with non-syndromic cleft lip with or without cleft palate.**, Clin Genet. 2018, IF 3,512, MNiSW 30 pkt) jest również pracą oryginalną z najwyższym czynnikiem wpływu, w której doktorantka jest drugim autorem. W pracy przedstawiono złożoną analizę typu GWAS, która wskazywała na istotny związek wariantów genu *DLG1* w etiologii izolowanego rozszczepu wargi połączonego lub nie z rozszczepem podniebienia. Praca ta cechuje się wysoką oryginalnością z uwagi na pierwszy opis powiązania wariantów w genie *DLG1* w etiologii w/w wad.

Czwarta praca (**Association of CDKALI nucleotide variants with the risk of non-syndromic cleft lip with or without cleft palate.**, J Hum Genet. 2018, IF 2,942, MNiSW 20 pkt) obejmowała z kolei na podstawie badań GWAS analizę genotypowo-fenotypową między wariantami w genie *CDKALI* zlokalizowanym na chromosomie 6p22.3 a izolowanymi wadami rozszczepowymi twarzoczaszki. Praca ta, gdzie doktorantka jest pierwszym autorem, jest również wysoko oryginalna z uwagi na zidentyfikowanie nowego loci 6p22.3 w omawianych wadach oraz powiązanie wariantów polimorficznych w intronie 5 genu *CDKALI* z regulacją transkrypcji genu *SOX4*. Ten ostatni wniosek sugeruje rolę polimorfizmów w intronie 5 genu *CDKALI* jako wzmacniacze (enhancer) dla genu *SOX4*.

Ostatnia, piąta praca (**The molecular basis of non-syndromic orofacial clefts and tooth agenesis.**, opublikowana w J Med. Sci 2017 (MNiSW 10 pkt) jest pracą poglądową i dotyczyła tematu podłoża molekularnego izolowanych, niesyndromicznych rozszczepów wargi i/lub podniebienia oraz agenezji stałych zębów. W pracy zwrócono uwagę na

współwystępowanie tych obu wad rozwojowych oraz na wspólne geny kandydujące w ich etiologii.

Doktorantka sformułowała dwa trafne wnioski na podstawie swoich wyników badań:

- badania pozwoliły na pogłębienie wiedzy na temat złożonej etiologii najczęstszych wad rozwojowych twarzoczaszki

- badania umożliwiły zidentyfikowanie nowych genów oraz chromosomowych loci dla izolowanych rozszczepów wargi i/lub podniebienia oraz agenezji stałych zębów.

Z punktu widzenia merytorycznego nie mam istotnych uwag, które wpłynęłyby na moją recenzję. Zanotowałem kilka uwag redakcyjnych, które jednak nie wpływają na wartość merytoryczną wstępu.

W podsumowaniu podkreślę, że uzyskane rezultaty mają znaczenie dla nauki i lepszego zrozumienia etiologii i patogenezy wad rozszczepowych twarzo-czaszki. Doktorantka poprawnie formułuje problemy i założenia badawcze, wykazuje trafność doboru metod i narzędzi badawczych, umiejętność ich zastosowania. Dysertacja Doktorantki cechuje się prawidłowym, aczkolwiek według mojego doświadczenia trochę nietypowym układem pracy i struktury podziału treści oraz poprawnością formalno-językową. Uważam, że rozprawa została przygotowana starannie.

**W mojej ocenie rozprawa doktorska pani lek. Agnieszki Gaczkowskiej spełnia
wymogi, stawiane tego typu rozprawom i zwracam się do
Rady I Wydziału Lekarskiego
Uniwersytetu Medycznego im Karola Marcinkowskiego w Poznaniu
o dopuszczenie pani Agnieszki Gaczkowskiej
do dalszych etapów przewodu doktorskiego.**

Dr hab. Robert Śmigiel, prof. nadzw.

