

Dr hab. n. med. Monika Oldak
Katedra i Zakład Histologii i Embriologii
Centrum Biostruktury
Warszawski Uniwersytet Medyczny
ul. T. Chałubińskiego 5, 02-004 Warszawa
tel. 22-629-52-82
Monika.Oldak@wum.edu.pl

Warszawa, 31 marca 2014 r.

OCENA PRACY DOKTORSKIEJ MGR INŻ. JUSTYNY ANNY KAROLAK
PT.: „ZŁOŻONOŚĆ ASPEKTÓW GENETYCZNYCH W WIELOCZYNNIKOWYCH CHOROBAH NARZĄDU
WZROKU – STOŻKU ROGÓWKI ORAZ WYSOKIEJ KRÓTKOWZROCZNOŚCI”

wykonanej w Zakładzie Mutagenезy Środowiskowej Instytutu Genetyki Człowieka PAN w Poznaniu
oraz w Katedrze i Zakładzie Genetyki i Mikrobiologii Farmaceutycznej Uniwersytetu Medycznego im.

Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

pod kierownictwem prof. UMP dr hab. Marzeny Gajęckiej

Przedstawiona mi do oceny praca na stopień doktora nauk farmaceutycznych dotyczy ważnego problemu klinicznego i społecznego, jakim jest stożek rogówki i wysoka krótkowzroczność. W patogenezie tych chorób narządu wzroku znaczną rolę odgrywają czynniki środowiskowe, ale badania rodzin obciążonych stożkiem rogówki i wysoką krótkowzrocznością wskazują również na istotny wpływ komponenty genetycznej. Poznanie przyczyn i zrozumienie mechanizmów molekularnych prowadzących do powstania stożka rogówki i wysokiej krótkowzroczności jest niezwykle ważne, ponieważ stanowi punkt wyjścia do opracowanie strategii profilaktycznych i leczniczych w przyszłości.

W pracy doktorskiej p. mgr inż. Justyna Karolak postawiła sobie za cel przeprowadzenie analiz molekularnych, które pozwolą na identyfikację nowych czynników genetycznych mających znaczenie w etiologii stożka rogówki i wysokiej krótkowzroczności. W oparciu o uzyskane wyniki doktorantka zaplanowała również poszukiwanie związku pomiędzy tymi czynnikami a występowaniem fenotypu choroby. Badania do pracy doktorskiej p. Justyna Karolak prowadziła w doświadczonym zespole, zajmującym się od lat z powodzeniem problematyką genetycznych uwarunkowań stożka rogówki i wysokiej krótkowzroczności. Punktem wyjścia do jej projektu badawczego były zidentyfikowane wcześniej przez ten zespół naukowców *loci* sprzężone ze stożkiem rogówki i wysoką krótkowzrocznością w rodzinach z Ekwadoru i Polski.

Praca doktorska jest częścią trzech projektów badawczych: dwóch grantów Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego nr NN 402 591740 oraz NN 402 097837, a także Mini-Grantu nr G-31

Pracowni Sekwencjonowania DNA i Syntezy Oligonukleotydów IBB PAN i była z nich finansowana. Ponadto doktorantka otrzymała z Narodowego Centrum Nauki środki finansowe na przygotowanie rozprawy doktorskiej, była również stypendystką programu wspierającego doktorantów z obszaru Wielkopolski, współfinansowanego ze środków Unii Europejskiej.

W skład pracy doktorskiej wchodzi streszczenie w języku polskim, streszczenie w języku angielskim, opis zagadnień badawczych zawartych w pięciu oryginalnych publikacjach, stanowiących podstawę rozprawy doktorskiej, 74 pozycje piśmiennictwa, pełne teksty publikacji oryginalnych i przeglądowych stanowiących podstawę rozprawy doktorskiej oraz oświadczenia wszystkich współautorów o procentowym udziale w przedstawionych pracach badawczych.

Przedmiotem rozprawy doktorskiej p. mgr inż. Justyny Karolak są trzy publikacje oryginalne, których jest pierwszym autorem, dwie publikacje oryginalne, których jest współautorem oraz dwie prace przeglądowe, których jest pierwszym autorem, i w których przygotowanie miała znaczący wkład. Wszystkie prace oryginalne stanowiące podstawę tej rozprawy doktorskiej ukazały się w uznanych zagranicznych czasopismach naukowych: *Investigative Ophthalmology & Visual Science* (2013), *European Journal of Human Genetics* (2012), *Molecular Vision* (2011), *American Journal of Medical Genetics Part A* (2011) i przeszły proces oceny przez recenzentów specjalistycznych tych czasopism.

Pani mgr inż. Justyna Karolak analizowała sekwencje wielu genów znajdujących się we wcześniej wytypowanych obszarach chromosomowych sprzężonych ze stożkiem rogówki, takich jak: *COL4A2*, *PITX1*, *TGFBI*, *IL9*, *MBNL1*, *IPO5*, *FARP1*, *RNF113B*, *STK24*, *DOCK9*, *ZIC5*, *ZIC2*, *IL1A*, *IL1B*, *IL1RN*, *SLC4A11* oraz sekwencje genu *GRB10* i trzy polimorfizmy pojedynczego nukleotydu w obszarze genu *IGF1*, które związane są z wysoką krótkowzrocznością. Geny w badanych obszarach zostały wybrane na podstawie dostępnych z literatury przesłanek o ich możliwym związku z fenotypem choroby. Badania zostały przeprowadzone zgodnie z obowiązującymi zasadami poszukiwania nowych powiązań genetycznych. Badania prowadzone w rodzinach z wysoką krótkowzrocznością wykazały brak związku analizowanych obszarów genów z fenotypem choroby. Podobnie przeprowadzone badania wykluczyły związek wielu z wyżej wymienionych genów z występowaniem stożka rogówki.

Pełną segregację z fenotypem stożka znaleziono dla nowej mutacji w genie *DOCK9* oraz trzech wariantów sekwencji genów *DOCK9*, *IPO5*, *STK24*. Pokazano też po raz pierwszy ekspresję genów *IPO5* i *STK24* w komórkach ludzkiej rogówki. Badania te prowadzone były na materiale pochodzącym od pacjentów z Ekwadoru z rodzinnym występowaniem stożka rogówki. W grupie polskich pacjentów nie potwierdzono tego powiązania genetycznego. Stwierdzono również istotnie statystycznie częstsze występowanie substytucji w intronie genu *IL1RN* oraz delecji w intronie genu

SLC4A11 w grupie pacjentów ze stożkiem rogówki z Ekwadoru, sugeruje to udział tych genów w powstawaniu stożka rogówki

Rozprawa doktorska obejmuje również dwie prace przeglądowe - jedną w języku polskim, drugą napisaną w języku angielskim, w których doktorantka przedstawia aktualny stan wiedzy dotyczący etiologii stożka rogówki i aspektów molekularnych tej choroby, oraz opisuje wyniki swoich badań. Pani mgr inż. Jusytna Karolak wykonała ogromną pracę, wytrwale analizując sekwencje kolejnych genów podejrzanych o związek z chorobą. Według mojej wiedzy zadania badawcze, dotyczące etiologii stożka i wysokiej krótkowzroczności, podjęte w tej rozprawie doktorskiej, nie były dotychczas prowadzone w tak dużym zakresie i znakomicie poszerzają wiedzę na temat etiologii tych chorób. Potwierdzają też zakładaną wcześniej dużą heterogeniczność i udział wielu genów w powstawaniu stożka rogówki wysokiej krótkowzroczności.

Promotor pracy, prof. IGCz dr hab. Marzena Gajęcka oceniła udział p. mgr inż. Justyny Karolak w poszczególnych publikacjach w przedziale 80-11%. Drobną nieścisłość zauważyłam tylko przy procentowym rozkładzie udziału współautorów w pracy Rydzanicz i wsp. 2011, który nie sumuje się do 100%. Przedmiotem rozprawy doktorskiej jest łącznie siedem publikacji naukowych, co potwierdza znaczącą rolę doktorantki w prowadzonych projektach badawczych. Pani promotor oświadczyła, że doktorantka samodzielnie przeprowadzała eksperymenty, brała udział w analizie i interpretacji wyników, jak również przygotowaniu manuskryptów. Wyniki przedstawione w rozprawie doktorskiej oraz wkład doktorantki w ich powstanie pokazują, że bardzo dobrze opanowała ona warsztat badawczy.

W posumowaniu stwierdzam, że praca doktorska mgr inż. Justyny Karolak spełnia ustawowe wymogi stawiane rozprawom na stopień doktora nauk farmaceutycznych i doktorantka uzyskała dojrzałość naukową uprawniającą ją do starania się o ten stopień naukowy.

Biorąc pod uwagę wysoką wartość uzyskanych wyników, ich opublikowanie w renomowanych czasopismach naukowych zwracam się do Wysokiej Rady o wyróżnienie pracy doktorskiej mgr inż. Justyny Karolak.



Dr hab. n. med. Monika Ołdak
specjalista genetyki klinicznej
1650724