

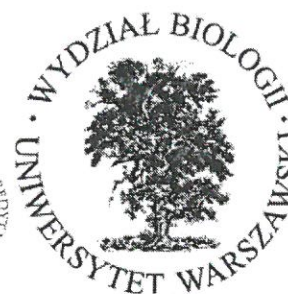


**Instytut Genetyki i Biotechnologii
UNIwersytet Warszawski
WYDZIAŁ BIOLOGII**

ul. PAWIŃSKIEGO 5A, 02-106 WARSZAWA

TEL: (+22) 592-22-44, FAX: (+22) 658-41-76

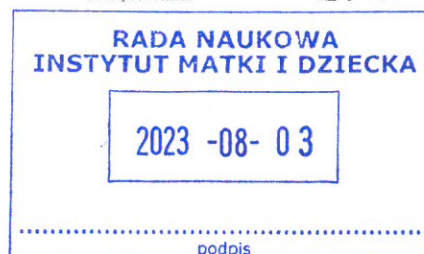
<http://www.igib.uw.edu.pl>



Prof. dr hab. Ewa Bartnik

tel.0048 22 592 22 40

e-mail: ebartnik@igib.uw.edu.pl



Recenzja rozprawy doktorskiej mgr Pauliny Górki-Skoczylas pt. „Analiza patologii molekularnej encefalopatii padaczkowych o charakterze kanałopatii”

Promotor – dr hab. Dorota Hoffman-Zacharska, prof. IMID

Przedstawiona do recenzji praca miała dwa podstawowe cele – bardzo istotny praktyczny, a mianowicie ustalenie algorytmu postępowania dla postawienia diagnozy u pacjentów z podejrzeniem encefalopatii kanałowej i rozwojowej, i cel naukowy – ustalenie podłoża molekularnego tych chorób u określonej grupy 115 pacjentów.

Rozprawa ma klasyczny układ, wstęp, cel pracy, materiał i metody, wyniki i dyskusję i spis literatury oraz dużą część dodatkową, opisującą badane geny, dane kliniczne, charakterystykę wariantów sekwencyjnych oraz parametry i warunki stosowane do sekwencjonowania nowej generacji i reakcji PCR.

Wstęp jest rozbudowany, omawia złożone zagadnienie padaczek rozwojowych i związanych z nimi genów. Podstawowy problem pracy to był dobór metod do badania i genów, które miały być badane przy w zasadzie ciągłym postępie wiedzy na temat tej grupy encefalopatii. Następnie po doborze metod i zebraniu grupy pacjentów podstawowym i rozległym problemem była analiza uzyskanych wyników.

Przed dalszym omówieniem pracy mam dwa rodzaje uwag – redakcyjne oraz parę uwag merytorycznych.

Praca napisana jest bardzo dobrym językiem zawiera bardzo nieliczne błędy.

str. 9 – Dravet-like syndrom (podobnie dla innego zespołu na str. 25)

str. 11 i 16 - neurozorojowowymi

str. 16 – „1 na 2000 żywych urodzeń rocznie” – chyba rocznie jest zbędne?

str. 17 – dugą zamiast drugą

str. 22 „Wskazywały one na zwiększone ryzyko padaczki u bliźniąt monozygotycznych, w porównaniu do bliźniąt dzygotycznych” – to nie o to chodzi, tylko o występowanie choroby u dwojga bliźniąt naraz częściej u mono- niż u dzygotycznych („among the monozygous pairs more were concordant for seizures...than among the dzygous pairs”).

str. 23 – Fronatl (zamiast Frontal)

na str. 24 cytowana jest literatura Helbig 2016, 2023; nie ma pracy z 2023 ani w spisie literatury ani w Pubmed, jest praca z 2018 r. no i cytowanie jest nieprawidłowe – to nie są prace jednoautorskie, powinno być Helbig i Abou Tayoun (2016), zresztą prawidłowo cytowane przy Figurze 8 oraz Helbig i in. (2018). Nie sprawdzałam wszystkich cytowań, ale np. też jest cytowanie McTague (Ryc. 7) a nie jak prawidłowo przy Ryc. 11 McTague i in. Błędne jest też określanie jako „w pracy Marcimek i Patel ...na str. 124 kiedy odnośnik w nawiasie podaje Mercimek-Mahmutoglu i in..Ponieważ literatura jest cytowana alfabetycznie jest to stosunkowo łatwo sprawdzić.

I na str. 25 precision medicine jest oddawane jako medycyna personalizowana, prawidłowy polski odpowiednik to medycyna precyzyjna, ale nie będę się wdawać tu w to czy te dwa określenia są tożsame, czy czymś się różnią, poproszę doktorantkę o parę słów na ten temat przy obronie.

I „zielony” na Ryc. 40 jest moim zdaniem zdecydowanie niebieski.

Po tych nielicznych uwagach chciałabym wyrazić podziw dla doktorantki, opanowanie klasyfikacji (zmieniającej się) i złożoności badanej grupy chorób jest wzorowe, i wstęp bardzo dokładnie opisuje różnorodność i trudności związane z badaniem kanałopatii i ich przyczyn. Autorka posługiwała się obszerną literaturą i ułatwiła pracę recenzenta przez podanie złożonych ale klarownych schematów dotyczących badanych chorób i już scharakteryzowanych przyczyn genetycznych.

Podstawą pracy tego typu jest właściwy dobór pacjentów; tu było to 115 osób o dobrze określonej patologii, to znaczy dla 64 określono typ zespołu padaczkowego, u pozostałych 51 rozpoznaniem było niesklasyfikowany zespół padaczkowy. Dla części badanych osób możliwa była analiza rodziców lub rodziny w celu ustalenia dziedziczenia wariantu określanego jako patogenny. Podstawą pracy było ustalenie listy genów, ostatecznie 49, do panelu określanego jako EEIE v.1/2016, który zastosowano u wszystkich pacjentów; u tych, u których nie uzyskano wyników, konkretnie u 35 osób, zastosowano całogenomowe sekwencjonowanie eksomowe (whole genome exome sequencing).

Nie będę opisywała szczegółowo stosowanych metod bioinformatycznych itp., warto zaznaczyć, że praca opiera się na 3 podstawowych filarach – doborze i charakterystyce pacjentów, doborze i zastosowaniu metod analizy genów i może najbardziej rozbudowanej części – analizie bioinformatycznej uzyskanych wyników. Tu zastosowano szeroki wachlarz metod, w oparciu o bazy danych o mutacjach i analizy jakie efekty dana mutacja mogłaby mieć na kodowane białko, splicing mRNA itp. Warto zaznaczyć, że część pracy „Materiał i Metody” jest bardzo obszerna, ze szczegółowym opisem stosowanych metod molekularnych i bioinformatycznych.

Ostatecznie molekularną przyczynę choroby udało się ustalić u 49 pacjentów, natomiast u 28 zidentyfikowano warianty potencjalnie patogenne. Bez ustalonej przyczyny pozostało 38 pacjentów. Zgodnie z tytułem rozprawy, mutacje białek związanych z kanałami jonowymi stanowiły ponad połowę znalezionych przyczyn choroby. Interesujące jest, że w sporej części przypadków, dla której było możliwe badanie pochodzenia wariantu, 34 z przebadanych 56 było wariantami de novo. Podjęto też próbę określenia czy wykryte mutacje powodują utratę funkcji czy uzyskanie nowej funkcji, a także podano lokalizację zmutowanego aminokwasu lub innej zmiany w kodowanym białku.

Praca trochę nietypowo zawiera i streszczenie (po polsku i po angielsku) na początku zaś posumowanie na końcu. Pozwolę sobie zacytować ostatni akapit podsumowania jako że znakomicie oddaje on dlaczego recenzowana praca jest moim zdaniem istotnym wkładem do wiedzy o encefalopatiach rozwojowych i padaczkowych (DEE – developmental and epileptic encephalopathy) „Poznanie genetycznego podłoża DEEs, a przez to identyfikacja poszczególnych procesów komórkowych, pozwalają z jednej strony na precyzyjne ustalenie rozpoznania, umożliwiając zastosowanie leczenia celowanego, ale także stanowią klucz do poznania mechanizmów funkcjonowania sieci neuronalnych zaangażowanych w epileptogenezę”.

Ustawa z dnia 14 marca 2003 o stopniach w Art. 13. 1. stanowi ”Rozprawa doktorska ... powinna stanowić oryginalne rozwiązanie problemu naukowego lub oryginalne rozwiązanie problemu w oparciu o opracowanie projektowe, konstrukcyjne, technologiczne, ... oraz wykazywać ogólną wiedzę teoretyczną kandydata w danej dyscyplinie naukowej lub artystycznej oraz umiejętność samodzielnego prowadzenia pracy naukowej lub artystycznej.”

Ustawa z dn. 20 lipca 2018 r. *Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce* określa wymagania stawiane rozprawom doktorskim:


Art. 187. [Rozprawa doktorska]

1. Rozprawa doktorska prezentuje ogólną wiedzę teoretyczną kandydata w dyscyplinie albo dyscyplinach oraz umiejętność samodzielnego prowadzenia pracy naukowej lub artystycznej.
2. Przedmiotem rozprawy doktorskiej jest oryginalne rozwiązanie problemu naukowego, oryginalne rozwiązanie w zakresie zastosowania wyników własnych badań naukowych w sferze gospodarczej lub społecznej albo oryginalne dokonanie artystyczne.

Przedstawiona praca zdecydowanie spełnia wymagania stawiane rozprawom doktorskim. Doktorantka rozwiązała bardzo konkretny problem naukowy i określiła optymalny przy obecnym stanie wiedzy algorytm postępowania z pacjentami z podejrzeniem encefalopatii padaczkowej.

Zwracam się więc do Rady Instytutu Matki i Dziecka o dopuszczenie pani mgr Pauliny Górki-Skoczylas do dalszych etapów przewodu doktorskiego, a w szczególności do publicznej obrony pracy. Wnoszę też o wyróżnienie pracy, na ogół nie robię tego jeśli wyniki nie zostały opublikowane, ale w tym przypadku doktorantka musiała opanować ogromny wachlarz technik zarówno molekularnych jak i bioinformatycznych co jej się w pełni udało, i efektem tej pracy jest algorytm postępowania, który na pewno znajdzie zastosowanie w badaniach pacjentów, choć na pewno będzie wymagał modyfikacji, jako że lista genów zaangażowanych w patogenezę badanej patologii zmienia się dynamicznie. Udało się też określić przyczyny choroby dla prawie 60% pacjentów, co może mieć znaczenie dla stosowanych terapii.

Warszawa 2.08.2023


UNIWERSYTET WARSZAWSKI
WYDZIAŁ BIOLOGII
INSTYTUT GENETYKI I BIOTECHNOLOGII
prof. dr hab. Ewa Bartnik