UNIWERSYTET MEDYCZNY
im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu
Katedra i Zakład Genetyki Medycznej
60-806 Poznań, ul. Rokietnicka 8
tel. 61 854 76 13

OCENA

rozprawy doktorskiej lek. Łukasza Pawlińskiego pt. „Epigenetic mechanisms of gene function control in patients with Gaucher disease"

Choroby rzadkie i ultrarzadkie stanowią narastające wyzwanie naukowe, diagnostyczne i terapeutyczne dla systemów opieki zdrowotnej i socjalnej krajów rozwiniętych. Obecnie znanych jest około 8000 chorób rzadkich (w ponad 80% uwarunkowanych genetycznie), które ciągle powodują trudności w diagnostyce klinicznej i laboratoryjnej oraz w prowadzeniu odpowiedniego leczenia. Należy przy tym zaznaczyć, że tylko zakrojone na szeroką skalę badania nad etiologią i patogenezą chorób rzadkich mogą doprowadzić do znaczącego postępu diagnostycznego i terapeutycznego.

W ostatnich latach, choroby rzadkie stały obiektem szczególnego zainteresowania europejskich i krajowych ustawodawców oraz systemów ochrony zdrowia. Już w 1999 roku w rozporządzeniu Parlamentu Europejskiego wskazano, że pacjent cierpiący na rzadkie stany chorobowe powinien być uprawniony do takiej samej jakości i dostępności do diagnostyki i leczenia, jak inni pacjenci. Kolejnym rozporządzeniem z 2007 roku Parlament Europejski zalecił, aby państwa członkowskie Unii Europejskiej opracowały plany dotyczące chorób rzadkich w ramach własnych systemów zdrowotnych i socjalnych. Z wieloletnim opóźnieniem, zaowocowało to w Polsce Uchwałą Rady Ministrów z dnia 24 sierpnia 2021 w sprawie przyjęcia dokumentu Plan dla Chorób Rzadkich oraz powołaniem przez Ministra Zdrowia w dniu 27 maja 2022 Rady ds. Chorób Rzadkich.

Jedną z takich chorób, jest choroba Gauchera, będąca rzadką chorobą metaboliczną z grupy lizosomalnych chorób spichrzeniowych, występująca na świecie z częstością około 1 na 50 000 urodzeń. Można przy tym oczekiwać, że w populacji polskiej jej częstość może być wyższa, w związku ze sporą pulą genów aszkenazyjskich (wśród Żydów Aszkenazyjskich choroba występuje nawet u 1 na 800 osób), choć zapewne jest znacznie niedoszacowana.

Wchodzące w skład rozprawy doktorskiej lek. Łukasza Pawlińskiego badania nad proteomem i epigenetyczną regulacją ekspresji genów oraz analiza ich wpływu na procesy patogenetyczne u pacjentów z chorobą Gauchera, wpisują się w światowy nurt nowoczesnych badań podstawowych nad chorobami rzadkimi.

Mur

Przedłożona rozprawa doktorska oparta jest na monotematycznym cyklu trzech publikacji, opublikowanych w języku angielskim w latach 2020-2021, opatrzonych wspólnym tytułem „Epigenetic mechanisms of gene function control in patients with Gaucher disease". Publikacje te ukazały się w dobrych czasopismach o zasięgu światowym, takich jak: Journal of Clinical Pathology, Life czy Experimental and Molecular Pathology. Łączny Impact Factor publikacji wchodzących w skład rozprawy doktorskiej wynosi 10,590, zaś łączna punktacja MNiSW wynosi 170 pkt, co z nadmiarem spełnia wymogi stawiane rozprawom doktorskim. We wszystkich publikacjach Doktorant jest pierwszym autorem, a wszyscy współautorzy złożyli odpowiednie oświadczenia dotyczące ich udziału i zgody na wykorzystanie publikacji w rozprawie doktorskiej.

Jedynym problemem dotyczącym bibliometrii jest fakt, że publikacja nr 2 opublikowana w czasopiśmie Life (Basel) kontrowersyjnego wydawnictwa MDPI nie znajduje się na liście punktowanych czasopism Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego, co sprawia, że przedłożony cykl trzech publikacji oryginalnych nie spełnia rekomendacji Rady Dyscypliny Nauki Medyczne UJ obowiązujących w postępowaniach o nadanie stopnia doktora (cyt. „co najmniej 3 oryginalne prace powiązane tematycznie opublikowane w czasopismach z listy MNiSW" lub „cykl składający się z 2 prac oryginalnych, o ile łączna wartość punktacji wg MNiSW wynosi co najmniej 200 punktów"). Tym niemniej, w mojej ocenie, przy tak wysokiej punktacji IF, nie należy kierować się arbitralnie ustaloną i opartą na niejasnych kryteriach punktacją MNiSW. Wnoszę zatem o uznanie, że przedłożona mi do recenzji rozprawa doktorska spełnia niezbędne kryteria formalne.

Kontynuując uwagi ogólne, pragnę stwierdzić, że tytuł rozprawy odnoszący się jedynie do epigenetycznej kontroli ekspresji genów nie oddaje w pełni istoty i szerokiego zakresu przeprowadzonych badań, które dotyczyły analizy transkryptomu, epigenomu i proteomu u pacjentów z chorobą Gauchera. Warto byłoby też dodać, że wszystkie badania obejmują wyłącznie pacjentów dorosłych z nieneuronopatycznym typem choroby, leczonych przy pomocy enzymatycznej terapii zastępczej, gdyż zarówno wiek pacjentów, jak i fakt leczenia przyczynowego w znaczący sposób wpływają na wszystkie uzyskane wyniki.

Przechodząc do uwag szczegółowych, stwierdzam co następuje:

Publikacja nr 1 pt. „Proteomic biomarkers in Gaucher disease" (J.Clin.Pathol. 2021; 74: 25-29) obejmuje analizę proteomiczną metodą iTRAQ oraz analizę transkryptomiczną z wykorzystaniem mikromacierzy ekspresyjnych. Wykonane badania pozwoliły na identyfikację zmiany ekspresji kilku białek zaangażowanych w regulację hemostazy oraz procesów zapalnych (co ciekawe zarówno pro-, jak i antyzapalnych). Jedynym istotnym

Mw

ograniczeniem tej pracy jest wykonanie jej na bardzo małej grupie pacjentów (6 osób) i tak samo małolicznej grupie kontrolnej, co zastanawia, zwłaszcza wobec faktu, że w pozostałych dwóch pracach badana jest grupa 20 chorych. Należy zatem postawić pytanie, skąd takie ograniczenie liczby osób badanych?

Publikacja nr 2 pt. „MiRNA expression in patients with Gaucher disease treated with enzyme replacement therapy" (Life 2020; 11(1): 2-25) to niezwykle obszerne opracowanie dotyczące ekspresji cząsteczek mikroRNA metodą mikromacierzy TLDA oraz qRT-PCR. Wykonane badania pozwoliły na identyfikację istotnie zmienionej u chorych ekspresji 30 cząsteczek miRNA, zaś bioinformatyczna analiza szlaków przez nie kontrolowanych wskazała na rozwój tkanki kostnej, procesów zapalnych, przekaźnictwa aksonalnego powiązanego z chorobą Parkinsona i adhezji międzykomórkowej.

W publikacji nr 3 pt. „Gene expression with corresponding pathways analysis in Gaucher disease" (Exp. Mol. Pathol. 2021; 123: 104679) dokonano analizy profilu ekspresji genów używając mikromacierzy ekspresyjnej i metody qRT-PCR. Wykazano, że u pacjentów z chorobą Gauchera występuje podwyższona ekspresja genów związanych ze szlakiem sygnałowym NFkB, apoptozą, degradacją proteasomów i transportem pęcherzykowym oraz obniżona ekspresja genów chemokin i ich receptorów, a także związanych z przeżywalnością neuronów.

Wszystkie powyższe publikacje oparte są na badaniach wykorzystujących najnowocześniejszą metodykę szerokoskalowej biologii molekularnej oraz bioinformatyki. Uzyskane wyniki stanowią oryginalny wkład Doktoranta i współpracującego z nim zespołu w poznanie patogenezy choroby Gauchera. Szczególnie cenne wydają się wyniki wskazujące, że również w typie nieneuronopatycznym choroby obserwuje się zmiany prowadzące do patologii układu nerwowego. Ponadto, wskazanie istotnej roli konkretnych cząsteczek miRNA w kontroli ekspresji konkretnych grup genów daje szansę na wykorzystanie tej wiedzy w opracowaniu nowych metod leczenia choroby.

Jedynym dostrzeżonym przeze mnie i wspominanym już wcześniej niedostatkiem dotyczącym wszystkich trzech publikacji jest ograniczenie badań do osób dorosłych leczonych enzymatyczną terapią zastępczą. Powoduje to, że uzyskane wyniki odnoszą się tylko do tej grupy chorych i nie muszą mieć analogii (przynajmniej w pełnym zakresie) w odniesieniu do dzieci i pacjentów nieleczonych. Ogromna szkoda, że do badań nie udało się włączyć takiej grupy pacjentów, ale z pewnością w przyszłości Doktorant będzie mógł porównać wyniki podobnych badań u pacjentów ze świeżo rozpoznaną, nieleczoną chorobą z badanymi dotąd dorosłymi pacjentami poddawanymi leczeniu.

Mer

Podsumowując, pragnę stwierdzić, że w mojej opinii, pomimo powyższych uwag, praca zasługuje na wysoką i pozytywną ocenę. Umiejętność formułowania celów badawczych, sposób ich realizacji oraz umiejętność krytycznej analizy uzyskanych wyników, a także udokumentowana rozległa wiedza i praktyczne umiejętności Doktoranta w zakresie problematyki badawczej, pozwalają wyrazić przekonanie, że będzie On w przyszłości umiejętnie łączyć rzetelność badawczą z wrażliwością lekarza, umiejącego dostrzegać i rozwiązywać trudne problemy swoich pacjentów.

Mając powyższe na względzie, stwierdzam, że przedstawiona mi do oceny rozprawa doktorska stanowi oryginalne rozwiązanie trudnych problemów badawczych i odpowiada wymogom Ustawy Prawo o Szkolnictwie Wyższym i Nauce z dnia 20.07.2018 roku, stawianym rozprawom na stopień naukowy doktora nauk medycznych i nauk o zdrowiu. Pozwalam sobie zatem przedłożyć Wysokiej Radzie Dyscypliny Nauki Medyczne Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie wniosek o dopuszczenie lek. Łukasza Pawlińskiego do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Jednocześnie, ze względu na wysoki poziom naukowy rozprawy, z przyjemnością wnioskuję o wyróżnienie rozprawy, choć ponownie zdaję sobie sprawę, że z powodu wspomnianych wyżej przyczyn nie spełnia ona wewnętrznych kryteriów wyróżnienia obowiązujących w prowadzonych przez Radę postępowaniach o nadanie stopnia doktora.

Poznań, 22 lipca 2022 r.

Prof. dr hab. n. med. Maciej Krawczyński
M. Krawczyński
Kierownik
Katedry i Zakładu Genetyki Medycznej
Uniwersytetu Medycznego
im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu