

Prof. zw. dr hab. med. Grzegorz Dzida
Katedra i Klinika Chorób Wewnętrznych
Uniwersytetu Medycznego w Lublinie

Lublin, 28. kwietnia 2023 r.

Ocena rozprawy doktorskiej mgr Małgorzaty Grzegorzczak :

***„Analiza związku polimorfizmu insercyjno/delecyjnego
promotora genu PPP3R1 kodującego kalcyneurynę B z masą
lewej komory serca”***

Poszukując genetycznych przyczyn nagłych zgonów sercowych młodych sportowców natrafiono na polimorfizm insercyjno/delecyjny 5 par zasad (5I/5D, rs3039851) w promotorze genu *PPP3R1* kodującego podjednostkę B1 kalcyneuryny. Następnie stwierdzono, że jest on związany z przerostem lewej komory , co potwierdzono również w badaniach pacjentów z nadciśnieniem tętniczym .. Przedstawiona mi do recenzji dysertacja jest nowatorską w skali światowej pracą poświęconą analizie powiązania polimorfizmu 5I/5D *PPP3R1* z masą lewej komory serca u zdrowych noworodków, ale także pierwszym doniesieniem opisującym częstość tego polimorfizmu u Polaków. Stąd z wielkim zainteresowaniem zapoznałem się z rozprawą doktorską mgr Małgorzaty Grzegorzczak. Temat rozprawy wybrany przez Doktorantkę i zrealizowany w ramach studiów doktoranckich pod opieką Profesora Andrzeja Ciechanowicza uważam za bardzo aktualny.

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska ma układ typowy dla tego rodzaju dysertacji i składa się z 58 stron wydruku komputerowego ilustrowanych 5 rycinami i zawiera 5 tabel.

Dysertację rozpoczyna spis treści oraz wykaz zastosowanych w tekście skrótów. Następnie w rozdziale wstępnym Doktorantka omawia rozwój serca ludzkiego oraz potencjalną w nim rolę kalcyneuryny. Bardzo wartościowym

jest podrozdział odnoszący się do badanego polimorfizmu genu *PPP3R1* i wyników dotychczasowych badań.

W rozdziale drugim Doktorantka jasno formułuje 3 precyzyjne cele pracy, wynikające z niedostatków dotychczas opublikowanych badań oraz stworzonej nowej koncepcji badawczej. Były nimi:

1. Opracowanie metody PCR-RFLP identyfikacji polimorfizmu insercyjno/delecyjnego promotora genu *PPP3R1*.
2. Ocena rozpowszechnienia polimorfizmu insercyjno/delecyjnego promotora genu *PPP3R1* w grupie zdrowych noworodków urodzonych o czasie.
3. Analiza związku pomiędzy polimorfizmem insercyjno/delecyjnym promotora genu *PPP3R1* i masą lewej komory serca u zdrowych donoszonych noworodków.

W rozdziale 3. Doktorantka opisuje materiał oraz opracowaną oryginalną metodę identyfikacji polimorfizmu (5I/5D, rs3039851).

Badania przeprowadzono po uzyskaniu zgody Komisji Bioetycznej Pomorskiego Uniwersytetu Medycznego (nr BN-001/57/05).

Materiał do badań stanowiły próbki genomowego DNA z krwi pępowinowej 162 zdrowych noworodków (71 dziewczynek i 91 chłopców), urodzonych po zakończeniu 37 tygodnia ciąży (od 38 do 40 tygodnia). Próbkę DNA zostały w sposób losowy wybrane z banku DNA noworodków Zakładu Biochemii Klinicznej i Molekularnej PUM w ramach współpracy naukowej z Kliniką Patologii Noworodka PUM. Wykorzystano również podstawowe dane kliniczne oraz wskaźniki oceny ultrasonograficznej serca w 3 dobie po urodzeniu. Autorska metoda wykrywania polimorfizmu została opisana precyzyjnie, umożliwiając jej odtworzenie. Wiarygodność metody została potwierdzona sekwencjonowaniem amplikonów.

Analizę statystyczną uzyskanych danych przeprowadzono używając właściwie dobranych narzędzi statystycznych.

Rozdział 4. „Wyniki” został przedstawiony skrupulatnie i zwięźle

W rozdziale 5. Doktorantka pokusiła się o konfrontację uzyskanych wyników z danymi literaturowymi. Dyskusję przeprowadziła ze świadomością ograniczeń ale także mocnych stron badań własnych.

Po omówieniu wyników i dyskusji mgr Małgorzata Grzegorzczak formułuje 3 wnioski końcowe ściśle korespondujące z założonymi celami pracy:

1. Zastosowana w niniejszej rozprawie metoda PCR-RFLP pozwala na wiarygodną identyfikację polimorfizmu 5I/5D (rs3039851) promotora genu *PPP3R1* kodującego podjednostkę B kalcyneuryny.
2. Częstość allelu 5D polimorfizmu rs3039851 genu *PPP3R1* u Polaków, określona w reprezentatywnej grupie zdrowych noworodków urodzonych o czasie, jest zbliżona do rozpowszechnienia tego wariantu genetycznego w innych populacjach pochodzenia europejskiego.
3. Polimorfizm 5I/5D (rs3039851) promotora genu *PPP3R1* jest związany z masą lewej komory serca u zdrowych donoszonych noworodków.

Pracę kończą streszczenia w języku polskim i angielskim oraz zestawienie piśmiennictwa obejmującego 53 dobrze cytowane pozycje literaturowe.

Ostatni rozdział stanowi aneks w postaci zestawienia wszystkich uzyskanych danych klinicznych w zależności od płci noworodków i genotypów, co zapewnia przejrzystość pracy naukowej.

Strona edytorska i metodologiczna przedstawionej rozprawy nie budzi większych zastrzeżeń. Z obowiązku recenzenta pozwolę sobie zwrócić uwagę, że w przygotowaniu pracy do publikacji należy używać zwrotu „w chromosomie” a nie „na chromosomie”, gdyż geny są integralną składową tychże.

Reasumując, całość rozprawy oceniam dobrze. Temat pracy jest aktualny i wnosi element nowości do współczesnego stanu wiedzy. Cel pracy został osiągnięty w oparciu o prawidłowo dobraną nowoczesną metodykę. Wnioski kończące pracę dowodzą, że cel badania został realizowany.

Oceniana praca stanowi własny dorobek naukowy Autorki i świadczy o umiejętności samodzielnego zaprojektowania i przeprowadzenia badań w oparciu o odpowiednie instrumentarium badawcze , stanowiąc oryginalne rozwiązanie problemu naukowego.

Wniosek końcowy:

Rozprawa doktorska mgr Małgorzaty Grzegorzczak spełnia warunki obowiązującej stosownej Ustawy odnośnie stopnia doktora w dyscyplinie nauki medyczne , bowiem:

1. Rozprawa stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego;
2. Doktorantka wykazała ogólną wiedzę teoretyczną w dyscyplinie medycyna;
3. Doktorantka wykazała się umiejętnością samodzielnego prowadzenia pracy naukowej.

Mam zaszczyt i przyjemność zwrócić się do Wysokiej Rady Naukowej Dyscypliny Nauki Medyczne Pomorskiego Uniwersytetu Medycznego w Szczecinie z wnioskiem o dopuszczenie mgr Małgorzaty Grzegorzczak do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Prof. dr hab. n. med. Grzegorz Dzida