



WARSZAWSKI
UNIwersYTET
MEDYCZNY



ZAKŁAD BIOCHEMII I ŻYWIENIA

Warszawa, 29 maja 2023 r.

Recenzja rozprawy doktorskiej „Analiza związku polimorfizmu genu interleukiny 6 i genu receptora interleukiny 6 z predyspozycją do bliznowca” autorstwa mgr Natalie Grzesch

Praca doktorska mgr Natalie Grzesch powstała na Pomorskim Uniwersytecie Medycznym w Szczecinie pod kierunkiem prof. dr. hab. n. med. Andrzeja Ciechanowicza.

Tworzenie bliznowców jest jednym z najbardziej intrygujących problemów związanych z procesem gojenia ran. Etiologia keloidów jest od lat przedmiotem badań i choć w literaturze znaleźć można sporo danych epidemiologicznych i molekularnych pozwalających na kreowanie hipotez, to mechanizm powstawania tych zmian nadal pozostaje nieokreślony. Nie ulega wątpliwości, że zrozumienie podstaw tego zaburzenia stanowiłoby najbardziej obiecującą nadzieję na opracowanie terapii celowanej. Dotąd nie ma idealnej metody leczenia bliznowców, a o istnieniu istotnej, niezaspokojonej potrzeby medycznej świadczy między innymi kilkadziesiąt trwających obecnie badań klinicznych oceniających skuteczność nowych, potencjalnych terapii oraz szukających przyczyn zaburzenia. Jedno z największych z nich prowadzone jest przez prof. Ernsta Reichenbergera na University of Connecticut w Stanach Zjednoczonych. Celem tego, rozpoczętego w 2009 roku, badania jest identyfikacja wariantów genetycznych predysponujących do bliznowca, a do analizy ma być włączonych 7000 uczestników, u których rozpoznano keloid lub osób blisko z nimi spokrewnionych („Identification of Genetic Variants That Contribute to Keloid Formation in Families and Isolated Cases”). Zespół prof. Ernsta Reichenbergera od wielu lat prowadzi prace nad genetycznym podłożem zaburzeń rozwoju i homeostazy skóry i układu szkieletowego i to jemu zawdzięczamy między innymi identyfikację autosomalnie dominującej mutacji warunkującej cherubizm. Podjęte przez Doktorantkę badania wpisują się zatem doskonale w nurt nowoczesnych badań genetycznych.

Przedstawiona mi do recenzji praca doktorska to syntetyczna, 78-stronicowa monografia napisana w języku polskim i podzielona na typowe dla tego typu dysertacji rozdziały: Wstęp, Cel pracy, Materiał i metody, Wyniki, Dyskusja, Wnioski, Streszczenie w języku polskim i angielskim oraz Piśmiennictwo zawierające 153 pozycje. Jest ona ilustrowana pięcioma rycinami, zawiera też osiem tabel, które ułatwiają podążanie za tokiem rozumowania Doktoranta. Rozprawa została przygotowana bardzo starannie i napisana poprawnym językiem polskim.

We Wstępie Doktorantka sięgnęła do pierwszego opisu bliznowca zawartego w papirusie Smith'a sprzed prawie 4000 lat, ale też w dwóch podrozdziałach opisała współczesne poglądy na patogenезę keloidu oraz przedstawiła znane czynniki genetyczne tego zaburzenia, a zwłaszcza dane dotyczące szlaku sygnalizacyjnego IL-6, które stały się podstawą do sformułowania założeń i celów projektu doktorskiego. Celem rozprawy była ocena związku trzech polimorfizmów promotora genu kodującego IL-6 i jednego polimorfizmu kodującego receptor dla IL-6 z predyspozycją do bliznowca u Polaków. Trzy szczegółowe cele pracy obejmowały ocenę związku z predyspozycją do bliznowca wspomnianych polimorfizmów analizowanych pojedynczo, analizę nierównowagi sprzężenia pomiędzy poszczególnymi parami polimorfizmów promotora genu kodującego IL-6 oraz rekonstrukcję haplotypów utworzonych przez trzy polimorfizmy promotora genu kodującego IL-6 i ocenę związku tych haplotypów z predyspozycją do bliznowca. W rozdziale Materiały i metody zawarta jest charakterystyka kliniczna 86 pacjentów z bliznowcem, przedstawienie grupy kontrolnej, którą stanowiło 100 zdrowych noworodków urodzonych w Szczecinie oraz opis technik zastosowanych do badań molekularnych, a były nimi polimorfizm długości fragmentów restrykcyjnych (PCR-RFLP) i sekwencjonowanie. W sekcji tej znajduje się także opis testów statystycznych wykorzystanych do oceny poziomu istotności statystycznej uzyskanych wyników. Przyjęta przez Doktorantkę metodologia badawcza jest opisana w sposób jasny i pozwalający na zrozumienie dokonanego wyboru technik. Kluczowym elementem rozprawy są wyniki. Doktorantka nie stwierdziła istotnych różnic w rozkładzie częstości alleli i genotypów dla badanych polimorfizmów pomiędzy grupą pacjentów z bliznowcem i grupą kontrolną, nie wykazała też istotnych różnic w rozkładzie częstości haplotypów między badanymi grupami, co uzasadnia dwa sformułowane przez nią wnioski, które mówią, że ani analizowane pojedynczo polimorfizmy genu kodującego IL-6 i receptor dla IL-6 ani badane haplotypy genu kodującego IL-6 nie wiążą się z wyższym ryzykiem bliznowca w badanej grupie Polaków.

Wszystkie uzyskane wyniki zostały poddane dogłębnej i dojrzałej dyskusji. Jej lektura wskazuje na dobrą znajomość zagadnień związanych z tematyką pracy i zdolność do krytycznej analizy własnych obserwacji w oparciu o dane literaturowe. Za szczególnie ciekawy uznaję fragment dyskusji dotyczący

uzasadnienia wyboru mieszkańców Pomorza Zachodniego za próbę reprezentatywną dla populacji polskiej w badaniach z zakresu epidemiologii genetycznej, a także wskazanie ograniczeń przeprowadzonego badania.

W trakcie lektury rozprawy nasunęło mi się kilka pytań i uwag do Autorki.

1) Badane w pracy polimorfizmy kształtują predyspozycję do określonych chorób, między innymi astmy czy toczenia układowego trzewnego - Doktorantka pisze o tym w dyskusji. Czy Autorka miała szansę przyrzeć się uczestnikom badania, u których występują konkretne, ujawnione w trakcie analiz polimorfizmami, pod kątem chorób innych niż bliznowiec?

2) Bliznowiec charakteryzuje się zwłóknieniem spowodowanym między innymi nieprawidłową przebudową macierzy zewnątrzkomórkowej i proliferacją fibroblastów keloidowych syntezujących fibronektynę i kolagen. W opublikowanym w 2019 roku badaniu przeprowadzonym w grupie 229 polskich piłkarzy wykazano, że jeden z badanych przez Doktorantkę polimorfizmów genu kodującego IL-6 (rs1800795), ale nie polimorfizm genu kodującego receptor dla IL-6 (rs2228145), wiąże się ze zwiększonym ryzykiem zerwania więzadła krzyżowego przedniego - jednego z więzadeł kolanowych, a mechanizm tego uszkodzenia wskazuje na zaburzenia w przebudowie macierzy zewnątrzkomórkowej („Are IL1B, IL6 and IL6R Gene Variants Associated with Anterior Cruciate Ligament Rupture Susceptibility? Lulińska-Kuklik E. i wsp., Journal of Sports Science and Medicine (2019) 18, 137-145). Czy zatem według Doktorantki zarówno bliznowiec, jak i skłonność do uszkodzenia więzadła krzyżowego przedniego mogłyby powstawać w podobnym patomechanizmie i tylko niewystarczająca liczebność grupy badanej uniemożliwiła jej odkrycie tego związku?

3) Czy w pracach prowadzonych przez Doktorantkę przydatne byłyby dane z projektu „Nasze Genomy”, w których analizie poddano 1000 genomów mieszkańców Polski?

Podsumowując, oceniam rozprawę doktorską mgr Natalie Grzesch pozytywnie. Doktorantka podjęła oryginalny problem badawczy i właściwie go rozwiązała. Wątki poruszone w rozprawie są wyrazem dociekliwości badawczej Autorki, jej przygotowania warsztatowego oraz umiejętności zaplanowania i przeprowadzenia projektu z dbałością o wnikliwą i rzetelną prezentację wyników badania. Stwierdzam, że przedstawiona mi do oceny rozprawa doktorska spełnia wszystkie wymagania art.187 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 roku Prawo o Szkolnictwie Wyższym i Nauce (Dz.U. z 2018 poz. 1668 z późn. zm.) i wnoszę do Rady Naukowej Dyscypliny Nauki Medyczne na Pomorskim Uniwersytecie Medycznym w Szczecinie o dopuszczenie mgr Natalie Grzesch do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Krzysztof Korwał