INSTYTUT
GENETYKI CZŁOWIEKA
POLSKIEJ AKADEMII NAUK

ul. Strzeszyńska 32
60-479 Poznań

tel. +48/61/657 91 00
fax +48/61/823 32 35
e-mail: igcz@man.poznan.pl

www.igcz.poznan.pl

Poznań, 13.07.2026

Prof. dr hab. Maciej Giefing
Dyrektor Instytutu Genetyki Człowieka PAN
Kierownik Zakładu Genetyki Nowotworów

Recenzja

rozprawy doktorskiej mgr Anny Szoszkiewicz pt.

„Analiza podłoża genetycznego wybranych wrodzonych wad rozwojowych kręgów u człowieka"

Celem przedstawionej mi do recenzji rozprawy doktorskiej jest identyfikacja podłoża genetycznego wrodzonych wad kręgów (*ang. congenital vertebral malformations – CVMs*) w grupie 34 pacjentów z wadami rozwojowymi kręgosłupa stwierdzonymi na podstawie badań obrazowych i rozpoznaniem klinicznym. Cel doktorantka realizowała poprzez zastosowanie autorskiego podejścia, algorytmu, zakładającego sukcesywne przejście od badań z wykorzystaniem porównawczej hybrydyzacji genomowej (aCGH), przez sekwencjonowanie panelu 42 genów powiązanych z wadami rozwojowymi kręgosłupa, a w ostatnim etapie z wykorzystaniem technik sekwencjonowania całoeksomowego i całogenomowego.

Chciałbym podkreślić, że rozprawa bardzo dobrze wpisuje się w nurt badań prowadzonych w Zakładzie Genetyki Medycznej UMP, w którym pracuje doktorantka i jest kontynuacją wieloletnich, doskonałych badań w tym obszarze prowadzonych przez Pana promotora, profesora Aleksandra Jamsheera. Wybór przedmiotu badań jest też niewątpliwie trafny ponieważ ustalenie przyczyny wad rozwojowych u danego pacjenta ma kluczowe znaczenie dla planowania postępowania klinicznego oraz dalszego poradnictwa genetycznego.

Jest też ważny dla pacjentów a zwłaszcza rodziców pacjentów i niejednokrotnie stanowi źródło znacznej poprawy ich stanu psychicznego.

Przygotowana przez Panią mgr Annę Szoszkiewicz rozprawa doktorska jest klasyczną „spinką" w skład której wchodzą trzy opublikowane manuskrypty. Są to dwie prace oryginalne i jedna praca przeglądowa. Na uznanie zasługuje fakt, że doktorantka jest we wszystkich przypadkach pierwszą autorką. Dwie prace ukazały się w uznanym czasopiśmie *Orphanet Journal of Rare Diseases* natomiast trzecia praca ukazała się nakładem niecieszącego się dobrą opinią wydawnictwa MDPI co w mojej ocenie obniża ocenę rozprawy.

W całości recenzowana rozprawa liczy 107 stron, załączone publikacje są poprzedzone wykazem skrótów, spisem treści, charakterystyką aktywności naukowej doktorantki, dobrze napisanym wstępem teoretycznym do publikacji oraz spisem cytowanego piśmiennictwa jak również streszczeniami w języku polskim i angielskim. Wstęp kończy przedstawienie pięciu wniosków z rozprawy, z którymi się w pełni zgadzam. Co warto podkreślić, nie są one nadinterpretacją otrzymanych wyników. Do rozprawy dołączono formalne oświadczenia współautorów o ich udziale w opublikowanych pracach. Tym samym kwestie formalne dotyczące roli danych osób w przygotowaniu publikacji nie budzą wątpliwości. Odnosząc się jeszcze do aktywności naukowej doktorantki chciałbym podkreślić, że jest ona współautorką 11 dobrze cytowanych prac naukowych, może poszczycić się zdobyciem i kierowaniem grantu PRELUDIUM NCN a także dobrą mobilnością międzynarodową. Wszystkie te osiągnięcia zasługują na duże uznanie!

Podsumowując tę część recenzji stwierdzam, że zarówno wstęp do całej rozprawy jak i wstępy poszczególnych prac wchodzących w skład spinki, świadczą o dobrej znajomości przedmiotu przed doktorantkę w tym szczegółowych zagadnień dotyczących molekularnego podłoża badanych chorób. **Tym samym stwierdzam, że rozprawa doktorska w pełni prezentuje bardzo dobrą, ogólną wiedzę teoretyczną doktorantki w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu.**

Przejdę teraz do omówienia poszczególnych publikacji stanowiących spinkę.

1) Pierwsza praca przeglądowa stanowi bardzo dobry, pogłębiony wstęp teoretyczny do prac eksperymentalnych. W pracy w sposób przejrzysty podsumowano stan wiedzy na temat molekularnego podłoża CVM. Praca zawiera też dobre ilustracje ułatwiające zrozumienie treści oraz obszerną tabelę 1 z zebranymi genami powiązanymi z CVM oraz typem wady kręgów jak i opisem innych wad towarzyszących. Tabela 2 zawiera natomiast cenne informacje o roli danych genów i przydatne odniesienia do konkretnych doniesień literaturowych. Pozytywnie oceniam także próbę zgłębienia przez doktorantkę mniej

uchwytnych czynników środowiskowych i epigenetycznych, zebranych w tabeli 4, mogących mieć wpływ na rozwój omawianych chorób. Jak bardzo obszerny jest ten przegląd świadczy fakt, że liczba cytowanych publikacji to aż 228 pozycji. Wnioski z przeprowadzonego przeglądu stanowiły podstawę do podjęcia dalszych badań opisanych w recenzowanej rozprawie.

2) Druga praca to pogłębione doniesienie o przypadku pacjentki ze zdiagnozowaną akampomeliczną dysplazją kampomeliczną (*ang. acampomelic campomelic dysplasia - ACD*). W toku przeprowadzonych badań wykryto przyczynę molekularną obserwowanych wad, którą była duża delecja obejmująca fragment blisko 1,7 Mpz zlokalizowana powyżej genu *SOX9*. Gen odpowiada za prawidłową embriogenezę i jest już powiązany w literaturze z tą jednostką chorobową. Na uznanie zasługuje fakt, że zidentyfikowana delecja jest zaledwie szóstą tego typu zmianą dotychczas opisaną w literaturze przedmiotu. Zidentyfikowane delecje są dobrze zobrazowane na rycinie 2 manuskryptu. Praca jest niewątpliwie ważnym doniesieniem literaturowym, poszerzającym spektrum raportowanych mutacji genetycznych warunkujących fenotyp ACD. Mam jednak także kilka uwag do omawianej publikacji:

   - W utraconym fragmencie genomu zlokalizowany jest także gen niekodujący zobrazowany na rycinie 2. Doktorantka nie poświęca temu faktowi więcej uwagi a istnieje możliwość że ta sekwencja też może mieć wpływ na obserwowany fenotyp. Chętnie dowiedziałbym się na jej temat czegoś więcej.

   - Doktorantka, słusznie zauważa że należałoby przeprowadzić badania ekspresji genu *SOX9* u pacjentki aby funkcjonalnie potwierdzić efekt delecji. Dziwi więc fakt, że nie podjęto dalszych badań tego typu. Wykonanie choćby prostych badań ekspresji genu w komórkach jądrzastych krwi obwodowej pacjentki mogłoby rzucić pewne światło na stawianą przez doktorantkę hipotezę, że delecja sekwencji regulatorowych powyżej genu prowadzi do jego resztkowej ekspresji. Co więcej wykonanie bardziej zaawansowanych badań eksperymentalnych z przygotowaniem na przykład modelu IPS z komórek pobranych od pacjentki można wykonać w ramach współpracy np. w kierowanym przeze mnie Instytucie Genetyki Człowieka PAN. Uzyskanie takiego modelu umożliwiłoby zbadanie wpływu delecji na poziom białka czy dalej zmian w formowaniu się domen topologicznych (*ang. topologically associating domain – TAD*) na skutek utraty sekwencji regulatorowych genu. Brak jakichkolwiek badań funkcjonalnych w ocenianej publikacji zmniejsza wartość naukową tej części rozprawy.

3) Trzecia praca przedstawia autorski algorytm badań diagnostycznych u pacjentów z CVM w celu ustalenia podłoża molekularnego warunkującego fenotyp. Zaproponowane

podejście umożliwiło wyjaśnienie przyczyn choroby u czterech pacjentów co stanowiło 12% grupy. Choć wspomniany procent nie jest wysoki to otrzymane wyniki są zdecydowanie sukcesem. Doktorantce udało się zidentyfikować potencjalnie patogenne warianty w genach *FLNB* i *KMT2D* oraz, co ważne, wskazać dwa nowe gany kandydackie, mianowicie *NSD2* i *TBXT*. Godny uwagi jest fakt że dla genu *FLNB* znane są jedynie sporadyczne doniesienia literaturowe dotyczące wariantów prowadzących do złożonej heterozygotyczności co podkreśla wagę uzyskanych przez doktorantkę wyników. Jeśli chodzi natomiast o ocenę zaproponowanego algorytmu diagnostycznego to zgadzam się w pełni z doktorantką, że badania z wykorzystaniem panelu genów wykazały znikomą przydatność diagnostyczną co jest zgodne z ogólnoświatową tendencją do odchodzenia od paneli na rzecz badań WES czy WGS.

Mam kilka uwag do trzeciej publikacji. W pracy zabrakło mi bliższych informacji o przewidywanych konsekwencjach molekularnych opisanych wariantów. Np. dla wariantów zlokalizowanych w miejscach spliceingowych genu *FLNB* brakuje przedstawienia którego intronu/eksonu dotyczą, jak duży jest sąsiedni ekson, czy przewiduje się raczej wystąpienia zjawiska utraty eksonu czy retencji intronu. Dane te pozwoliłyby lepiej przewidzieć ewentualne skutki obecności wariantów na kodowane białko. Podobnie jak w przypadku pracy drugiej, także w przypadku tej pracy brakuje walidacji funkcjonalnej ograniczonej choćby do wybranych wariantów.

Ocenione prace eksperymentalne niewątpliwie jednak pokazują biegłość Pani mgr Szoszkiewicz zarówno w projektowaniu eksperymentów jak i stosowaniu wysokoprzepustowych technik biologii molekularnej, które są odpowiednio dobrane do stawianych w rozprawie pytań badawczych. **Tym samym stwierdzam, że rozprawa doktorska w pełni wykazuje umiejętność samodzielnego prowadzenia pracy naukowej przez doktorantkę.**

Chciałbym również podkreślić fakt, że we wszystkich publikacjach wchodzących w skład spinki, doktorantka w dojrzały sposób dyskutuje otrzymane wyniki z przeprowadzonych eksperymentów, konsekwentnie unikając nadinterpretacji jak i świadomie zwracając uwagę na ograniczenia przeprowadzonych badań. Świadczy to o dużej dojrzałości naukowej Pani magister. Przeprowadzone badania wnoszą do literatury przedmiotu także ważną informację o korzyściach płynących z badań WES czy WGS i równocześnie wskazują na ryzyko płynące z ograniczenia badań do panelu genów powiązanych z daną jednostką chorobową. Niewątpliwie do atutów recenzowanej rozprawy należy także fakt, że pomogła ona wyjaśnić przyczynę molekularną zmian fenotypowych u czterech pacjentów. **Podsumowując tę część**

recenzowanej rozprawy doktorskiej stwierdzam, że stanowi ona oryginalne rozwiązanie stawianego problemu naukowego.

Tym samym rozprawa doktorska przygotowana przez Panią mgr Annę Szoszkiewicz jest pracą wartościową, napisaną dobrym, naukowym językiem i starannie zredagowaną oraz, co ważne, wykonaną nowoczesnymi technikami wysokoprzepustowymi. Jest to rozprawa wnosząca zarówno do nauk podstawowych jak i mogąca mieć wpływ na stosowaną diagnostykę molekularną u pacjentów z CVM. Równocześnie stwierdzam, że największym minusem recenzowanej rozprawy jest brak analiz funkcjonalnych, które umożliwiłyby niezbędne pogłębienie prowadzonych badań oraz określenie konsekwencji opisywanych zmian molekularnych. Badania funkcjonalne są też niezbędne dla pełnej walidacji hipotez stawianych w poszczególnych publikacjach wchodzących w skład rozprawy doktorskiej.

Konkludując stwierdzam, że rozprawa doktorska przygotowana przez mgr Annę Szoszkiewicz w pełni spełnia warunki określone w art. 187 Ustawy z dnia 20 lipca 2018r. prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. 2018 poz. 1668) i wnoszę do Kapituły Kolegium Nauk Farmaceutycznych o dopuszczenie rozprawy do obrony.

Maciej Giefing

