Instytut „Centrum Zdrowia Matki Polki”
Zakład Genetyki
93-338 Łódź; ul. Rzgowska 281/289 tel.: (0-42) 271-12-71; e-mail: genetyka@iczmp.edu.pl
Kierownik: Prof. dr hab. n. med. Agnieszka Gach

Łódź, 04.08.2026

Prof. dr hab. n. med. Agnieszka Gach

Zakład Genetyki

Instytut „Centrum Zdrowia Matki Polki”

93-338 Łódź; ul. Rzgowska 281/289

Recenzja

rozprawy doktorskiej mgr farm. Anny Szoszkiewicz pt. „Analiza podłoża genetycznego wybranych wrodzonych wad rozwojowych kręgów u człowieka”

przedłożonej w postępowaniu o nadanie stopnia doktora w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu, w dyscyplinie nauki farmaceutyczne

Promotor: Prof. dr hab. n. med. Aleksander Jamsheer

Wrodzone wady rozwojowe kręgów (ang. congenital vertebral malformations, CVMs) stanowią klinicznie i genetycznie niejednorodną grupę zaburzeń rozwoju szkieletu osiowego. Ich znaczenie wykracza poza samą klasyfikację anatomiczną, ponieważ u części pacjentów prowadzą do przewlekłych dolegliwości bólowych, ograniczenia sprawności, konieczności wielospecjalistycznego leczenia ortopedycznego, neurologicznego i rehabilitacyjnego, a także do obciążenia rodzin niepewnością diagnostyczną. Wady te mogą występować jako izolowanie, lecz często są elementem szerszego obrazu zespołowego, obejmującego m.in. wady układu moczowego i sercowo-naczyniowego, niedosłuch, cechy dysmorfii twarzoczaszki oraz nieprawidłowości narządu wzroku. Z tego względu ustalenie przyczyny molekularnej ma bezpośrednie przełożenie na praktykę kliniczną: umożliwia właściwe rozpoznanie, ocenę rokowania, zaplanowanie nadzoru nad objawami pozakręgowymi oraz udzielenie rzetelnej porady genetycznej.

Pomimo ogromnego postępu diagnostyki molekularnej, w tym zastosowania porównawczej hybrydyzacji genomowej do mikromacierzy, sekwencjonowania następnej generacji, sekwencjonowania całoeksomowego i całogenomowego, etiologia znacznej części przypadków CVMs pozostaje niewyjaśniona. Wynika to zarówno z rzadkości i heterogenności

tych zaburzeń, jak i z ograniczeń interpretacji wariantów w regionach niekodujących, zmian regulatorowych, wariantów strukturalnych, mechanizmów epigenetycznych oraz możliwego modelu oligogenicznego lub wieloczynnikowego. Z tej perspektywy temat podjęty przez Doktorantkę uważam za bardzo aktualny, potrzebny i dobrze osadzony w jednym z najważniejszych kierunków współczesnej genetyki medycznej: integracji danych klinicznych, obrazowych i genomowych w diagnostyce chorób rzadkich.

Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska została przygotowana w formie spójnego tematycznie cyklu trzech publikacji, poprzedzonego syntetycznym omówieniem dorobku naukowego Doktorantki oraz przedmiotu badań. Cykl obejmuje jedną pracę przeglądową i dwie prace oryginalne, opublikowane w latach 2024–2026, o łącznym współczynniku oddziaływania IF = 11,9 oraz łącznej punktacji MNiSW = 340. Wszystkie publikacje dotyczą molekularnego podłoża wrodzonych wad rozwojowych kręgów i tworzą logiczną całość: od przeglądu aktualnego stanu wiedzy, przez pogłębioną charakterystykę pojedynczego, bardzo interesującego przypadku z delecją regulatorową upstream genu *SOX9*, po analizę kohorty pacjentów z CVMs z wykorzystaniem etapowego algorytmu diagnostycznego.

W odniesieniu do wymogów formalnych postępowania prowadzonego w Uniwersytecie Medycznym im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu należy podkreślić, że rozprawa została oparta na cyklu publikacji, w których Doktorantka jest pierwszym autorem. Cykl obejmuje dwie prace oryginalne opublikowane w recenzowanych czasopismach naukowych, w tym jedną pracę za 140 punktów MNiSW oraz jedną pracę za 100 punktów MNiSW.

Rozprawa ma przejrzysty i właściwy dla dysertacji opartej na cyklu publikacji układ redakcyjny. Zawiera wykaz publikacji stanowiących podstawę postępowania, opis aktywności naukowej Doktorantki, wprowadzenie do tematyki badań, założenia i cele pracy, omówienie poszczególnych publikacji, wnioski, piśmiennictwo, streszczenia w języku polskim i angielskim, kopie artykułów oraz oświadczenia współautorów. Taki układ pozwala czytelnikowi ocenić zarówno spójność naukową cyklu, jak i rzeczywisty wkład Doktorantki w powstanie prac.

Na szczególne podkreślenie zasługuje aktywność naukowa Pani mgr farm. Anny Szoszkiewicz. Doktorantka ukończyła studia farmaceutyczne z wyróżnieniem, a następnie konsekwentnie rozwijała kompetencje w zakresie genetyki człowieka i diagnostyki molekularnej. Jej dorobek obejmuje 11 publikacji naukowych, w tym 6 pierwszoautorskich, o łącznym IF 36,4 i 1170 punktach MNiSW, a także udział w projektach krajowych i międzynarodowych. Warto zwrócić uwagę, że Doktorantka jest kierownikiem projektu PRELUDIUM 23 dotyczącego roli metylacji DNA w patogenezie zespołu Klippla-Feila, co pokazuje, że rozwija własną, samodzielną linię badawczą wynikającą bezpośrednio z doświadczeń zdobytych podczas realizacji rozprawy. Dodatkowo odbyła staże zagraniczne w Aarhus University, University of Eastern Finland oraz University of Copenhagen, a także uczestniczyła w szkoleniach z zakresu analizy danych NGS i programowania w R. Taki profil aktywności wyraźnie wskazuje na ponadstandardowe zaangażowanie naukowe i duży potencjał dalszego rozwoju.

Celem głównym rozprawy była identyfikacja podłoża genetycznego wrodzonych wad rozwojowych kręgów u 34 pacjentów. Cel ten został rozpisany na cztery cele szczegółowe: ocenę

udziału CNV w etiologii CVMs z wykorzystaniem aCGH, identyfikację wariantów związanych z CVMs z użyciem ukierunkowanego panelu NGS oraz WES/WGS u pacjentów bez rozpoznania po wcześniejszych etapach diagnostyki, ocenę zależności genotyp-fenotyp oraz ocenę skuteczności zastosowanego algorytmu diagnostycznego. Cele zostały sformułowane jasno, są wewnętrznie spójne i odpowiadają realnemu problemowi klinicznemu, jakim jest niska wykrywalność przyczyny genetycznej u pacjentów z CVMs.

Pierwsza publikacja, zatytułowana „Molecular landscape of congenital vertebral malformations: recent discoveries and future directions", ma charakter przeglądowy i stanowi bardzo dobre merytoryczne wprowadzenie do całego cyklu. Autorka wraz ze współautorami przedstawiła w niej aktualny stan wiedzy dotyczący izolowanych i zespołowych postaci CVMs, uwzględniając podłoże genetyczne, epigenetyczne i środowiskowe. Szczególnie wartościowe jest uporządkowanie 118 genów związanych z CVMs oraz przyporządkowanie 98 z nich do szlaków biologicznych istotnych dla rozwoju kręgosłupa. Praca ta nie jest jedynie tłem teoretycznym, lecz stanowi rzeczywistą podstawę koncepcyjną późniejszych analiz diagnostyczno-badawczych. W mojej ocenie świadczy o bardzo dobrym przygotowaniu Doktorantki do prowadzenia badań w obszarze, który wymaga jednocześnie wiedzy z embriologii, genetyki klinicznej, biologii rozwoju i interpretacji danych wielkoskalowych.

Druga publikacja, „Upstream *SOX9* deletion in a 46,XY girl with acampomelic campomelic dysplasia and absent minipuberty", przedstawia szczegółową charakterystykę kliniczną i molekularną pacjentki z akampomeliczną dysplazją kampomeliczną oraz współistniejącym zaburzeniem rozwoju płci. Jest to praca bardzo wartościowa, ponieważ pokazuje znaczenie analizy regionów regulatorowych i zmian strukturalnych położonych poza sekwencją kodującą. U pacjentki stwierdzono delecję de novo w regionie 17q24.3, położoną 191 kb upstream względem genu *SOX9* i obejmującą jedenaście znanych enhancerów tego genu. Delecję potwierdzono qPCR, a sekwencjonowanie metodą Sangera umożliwiło identyfikację punktów złamania i określenie ostatecznego rozmiaru zmiany. Przedstawiony przypadek dobrze ilustruje, że prawidłowa interpretacja fenotypu pacjenta może wymagać wyjścia poza klasyczne myślenie o wariantach kodujących i uwzględnienia zaburzeń topologii genomu oraz długodystansowej regulacji ekspresji genów.

Na uznanie zasługuje także wielowymiarowa interpretacja kliniczna tej publikacji. Autorzy nie ograniczyli się do samego opisu delecji, lecz zestawili wynik badania genetycznego z obrazem radiologicznym, fenotypem dysmorfologicznym, kariotypem 46,XY, całkowitą dysgenezją gonad oraz nietypowym profilem hormonalnym w okresie minipuberty. Ten aspekt pracy ma szczególne znaczenie praktyczne, ponieważ pokazuje potrzebę ścisłej współpracy genetyka klinicznego, endokrynologa, radiologa i pediatry w diagnostyce rzadkich chorób rozwojowych.

Trzecia publikacja, „Deciphering the Genetic Basis of Congenital Vertebral Malformations Through a Stepwise Diagnostic Approach", stanowi zasadnicze badanie kohortowe cyklu. Objęto nim 34 pacjentów z CVMs, w tym 16 pacjentów z zespołem Klippla-Feila. Zastosowano trzystopniowy algorytm diagnostyczny: analizę CNV metodą aCGH, następnie autorski panel NGS obejmujący 42 geny związane z CVMs u pacjentów z KFS

i prawidłowym wynikiem aCGH, a w ostatnim etapie WES lub WGS u pacjentów bez rozpoznania genetycznego. Wykryte warianty potwierdzano sekwencjonowaniem Sangera, analizowano segregację rodzinną i klasyfikowano zgodnie z wytycznymi ACMG. Dobór metod uważam za właściwy, logiczny i dobrze odpowiadający aktualnym potrzebom diagnostyki chorób rzadkich.

Wyniki tej pracy są interesujące zarówno z punktu widzenia poznawczego, jak i praktycznego. Zastosowana strategia pozwoliła ustalić rozpoznanie genetyczne u trzech pacjentów oraz zidentyfikować warianty o potencjalnym znaczeniu klinicznym u kolejnych dwóch. W badaniu aCGH wykryto wspomnianą delecję *de novo* upstream genu *SOX9* u pacjentki z ACD. Badania WES/WGS umożliwiły identyfikację dwóch prawdopodobnie patogennych wariantów wpływających na splicing w genie *FLNB* u chorego z zespołem spondylokarpotarsalnej synostozy oraz patogennego wariantu *de novo* typu nonsense w genie *KMT2D* u pacjentki z zespołem Kabuki. Ponadto wskazano wariant *de novo* typu missense w genie *NSD2* u pacjentki z fenotypem zgodnym z zespołem Rauch-Steindl oraz wariant typu nonsense w genie *TBXT* u pacjentki z agenezją kości krzyżowej i współistniejącymi wadami kręgów. Szczególnie cenne jest to, że Doktorantka ostrożnie interpretuje wariant *TBXT* jako możliwy czynnik predysponujący, a nie jednoznacznie sprawczy, co świadczy o dojrzałości interpretacyjnej i unikaniu nadmiernego wnioskowania.

Ważnym wynikiem praktycznym rozprawy jest wykazanie ograniczonej skuteczności ukierunkowanego panelu NGS u pacjentów z zespołem Klippla-Feila w analizowanej kohorcie oraz relatywnie większej wartości metod WES/WGS. Nie traktuję tego jako niepowodzenia, lecz jako wartościową informację diagnostyczną. W chorobach rzadkich wyniki negatywne, jeśli są uzyskane w dobrze zaplanowanym badaniu i właściwie zinterpretowane, mają istotne znaczenie dla optymalizacji ścieżek diagnostycznych. W tym przypadku dane z rozprawy wspierają podejście szersze, umożliwiające identyfikację wariantów w genach, które nie zostałyby uwzględnione w klasycznym panelu, a także stanowią argument za okresową reanalizą danych genomowych wraz z rozwojem wiedzy o mechanizmach patogenezy CVMs.

Dyskusja i wnioski są napisane z właściwym krytycyzmem. Doktorantka trafnie podkreśla, że mimo zastosowania kompleksowej diagnostyki u większości pacjentów nie udało się ustalić podłoża genetycznego. Nie jest to jednak słabość pracy, ale uczciwe odzwierciedlenie aktualnego stanu wiedzy i ograniczeń dostępnych narzędzi. Za szczególnie istotne uważam wskazanie przyszłych kierunków badań: analiz funkcjonalnych, sekwencjonowania RNA, profilowania metylomu, dalszej interpretacji wariantów niekodujących oraz reanalizy danych WES/WGS. Kierunki te są spójne z obecnym rozwojem genetyki medycznej i dobrze pokazują, że rozprawa nie zamyka tematu, lecz stanowi podstawę do kolejnych, bardziej zaawansowanych badań.

Od strony redakcyjnej rozprawa jest przygotowana starannie. Tekst jest logiczny, zwięzły i napisany poprawnym językiem naukowym. Wprowadzenie syntetycznie, ale wystarczająco przedstawia problematykę CVMs, a omówienie publikacji pozwala czytelnikowi zrozumieć, w jaki sposób poszczególne prace składają się na jeden program badawczy. Dobrym rozwiązaniem jest również przedstawienie aktywności naukowej Doktorantki, ponieważ pokazuje

ono, że rozprawa nie jest incydentalnym osiągnięciem, lecz częścią konsekwentnie rozwijanej działalności naukowej.

Mam jedynie kilka uwag o charakterze dyskusyjnym, które nie wpływają na moją jednoznacznie pozytywną ocenę rozprawy.

1. Dyskusji wymaga praktyczne miejsce ukierunkowanego panelu NGS w diagnostyce zespołu Klippla–Feila. Zastosowanie panelu obejmującego 42 geny u 12 pacjentów nie doprowadziło do ustalenia rozpoznania molekularnego, podczas gdy badania WES/WGS okazały się metodami o większej skuteczności diagnostycznej. W związku z tym proszę Doktorantkę o wyjaśnienie, czy w świetle uzyskanych wyników panel celowany powinien nadal stanowić pośredni etap diagnostyki, czy też bardziej uzasadnione byłoby wcześniejsze zastosowanie WES lub WGS, umożliwiających analizę szerszego spektrum genów oraz późniejszą reanalizę danych.
2. W przypadku wariantów kandydujących w genach *NSD2* i *TBXT* przedstawione dane nie pozwalają jeszcze na ostateczne potwierdzenie ich roli przyczynowej. Szczególnie interesujący jest heterozygotyczny wariant typu nonsense w genie *TBXT*, odziedziczony od zdrowej matki, którego znaczenie może wiązać się z niepełną penetracją, działaniem predysponującym albo bardziej złożonym, oligogenicznym lub wieloczynnikowym modelem dziedziczenia. Nie stanowi to uchybienia pracy, lecz odzwierciedla aktualne ograniczenia interpretacji wyników badań genomowych i jest wartościowym punktem wyjścia do dalszych analiz. Proszę Doktorantkę o przedstawienie, jakie dodatkowe badania – funkcjonalne, segregacyjne lub genomowe – mogłyby pozwolić na potwierdzenie znaczenia wariantów *NSD2* i *TBXT* oraz rozstrzygnięcie, czy wariant *TBXT* jest samodzielnym czynnikiem sprawczym, wariantem o niepełnej penetracji czy jedynie czynnikiem zwiększającym podatność na wystąpienie wady.
3. W odniesieniu do dwóch nowych wariantów wpływających na splicing genu *FLNB* pożądane byłoby ich funkcjonalne potwierdzenie na poziomie RNA. Brak takiej analizy nie podważa przedstawionej klasyfikacji, opartej na zgodności obrazu klinicznego, segregacji rodzinnej oraz przewidywanym wpływie wariantów na transkrypt, powinien jednak zostać wskazany jako ograniczenie badania. Sami Autorzy wskazują, że analiza RNA mogłaby potwierdzić zaburzenie splicingu i jego konsekwencje funkcjonalne. Proszę zatem Doktorantkę o wyjaśnienie, z jakiego materiału biologicznego należałoby przeprowadzić analizę transkryptu *FLNB* i czy możliwe byłoby jej wykonanie w komórkach łatwo dostępnych klinicznie, czy też konieczne byłoby wykorzystanie np. modelu komórkowego.

Podsumowując, rozprawę doktorską Pani mgr farm. Anny Szoszkiewicz oceniam bardzo wysoko. Stanowi ona spójny, nowoczesny i wartościowy wkład w poznanie molekularnego podłoża wrodzonych wad rozwojowych kręgów. Doktorantka wykazała się bardzo dobrym przygotowaniem teoretycznym, umiejętnością planowania i realizacji badań z wykorzystaniem zaawansowanych metod genomowych, zdolnością krytycznej interpretacji wyników oraz świadomością ograniczeń współczesnej diagnostyki. Przedstawione prace mają zarówno

znaczenie poznawcze, jak i praktyczne, ponieważ porządkują algorytm diagnostyczny, poszerzają spektrum znanych mechanizmów chorobowych oraz wskazują kierunki dalszych badań nad CVMs.

W mojej ocenie przedstawiona rozprawa doktorska Pani mgr farm. Anny Szoszkiewicz spełnia wymagania stawiane rozprawom doktorskim, określone w art. 187 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce. Rozprawa prezentuje ogólną wiedzę teoretyczną Doktorantki w dyscyplinie nauki farmaceutyczne, potwierdza Jej umiejętność samodzielnego prowadzenia pracy naukowej oraz stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego. Wnoszę zatem do Wysokiej Kapituły Kolegium Nauk Farmaceutycznych Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu o dopuszczenie Pani mgr farm. Anny Szoszkiewicz do publicznej obrony rozprawy doktorskiej oraz dalszych etapów postępowania w sprawie nadania stopnia doktora.

Jednocześnie wnioskuję o wyróżnienie rozprawy doktorskiej Pani mgr farm. Anny Szoszkiewicz. Uzasadnieniem wniosku jest wysoka wartość naukowa i poznawcza cyklu publikacji, aktualność oraz trudność podjętej problematyki, bardzo dobry i nowoczesny warsztat badawczy, dojrzała interpretacja wyników, istotne znaczenie uzyskanych danych dla genetyki klinicznej i diagnostyki chorób rzadkich, a także ponadprzeciętna aktywność naukowa Doktorantki. Wniosek ten znajduje również oparcie w warunkach wskazanych w § 11 uchwały Senatu UMP nr 211/2024, ponieważ wyniki rozprawy zostały opublikowane w formie prac oryginalnych w recenzowanych czasopismach naukowych, obejmujących co najmniej jedną publikację za 140 punktów MNiSW oraz dodatkową publikację oryginalną za 100 punktów MNiSW.

KIEROWNIK ZAKŁADU GENETYKI
Instytutu "Centrum Zdrowia Matki Polki"
prof. dr hab. n. med. Agnieszka Gach