

Warszawa, 4 .02.2018

Prof. dr hab. Przemysław Juszczynski  
Z-ca Dyrektora ds. Nauki  
Instytut Hematologii i Transfuzjologii  
Ul. Indiry Gandhi 14  
Warszawa 02-776

## **O C E N A**

### **rozprawy doktorskiej mgr inż. Marii Kuleckiej**

*„Sekwencjonowanie regionów kodujących genomu w poszukiwaniu podłoża genetycznego wybranych chorób wieloczynnikowych”*

W przedstawionej mi do recenzji pracy Doktorantka podejmuje się opracowania metod bioinformatycznych i statystycznych, które pozwoliłyby na analizę egzomów i identyfikację wariantów genetycznych odpowiadających za występowanie chorób o złożonym sposobie dziedziczenia. Doktorantka w swej pracy, jako modelowe choroby wykorzystwała cholestatyczne choroby wątroby, nieswoiste zapalenia jelit oraz makroAST.

Technologia sekwencjonowania następnej generacji (NGS) stała się narzędziem powszechnie wykorzystywanym w badaniach podłoża genetycznego chorób. Na rynku istnieje obecnie kilkanaście różnych platform, pozwalających na sekwencjonowanie w niespotykanej wcześniej skali, w wielokrotnie niższej cenie (w przeliczeniu na nukleotydy) niż sekwencjonowanie metodą Sangera. Technologia NGS zrewolucjonizowała genetykę i pozwoliła na identyfikację setek zaburzeń odpowiedzialnych za choroby dziedziczone w sposób mendlowski. Jednak szczególną rolę technologia ta odegrała w badaniach nad podłożem genetycznym chorób

nowotworowych. Te ostatnie, praktycznie bez wyjątku charakteryzują się występowaniem bardzo złożonych zaburzeń, nawet do kilkuset w komórce. Co więcej, komórki nowotworowe są genetycznie niestabilne, przez co spektrum zaburzeń może w czasie ewoluować. W konsekwencji, w obrębie tej samej próbki (biopsji) istnieć może kilka subklonów komórek nowotworowych. Zjawiska te stwarzają zatem duże trudności analityczne.

W swojej pracy doktorskiej, Pani mgr inż. Maria Kulecka podjęła się wykorzystania technologii NGS do badania podłoża genetycznego chorób o złożonym sposobie dziedziczenia. W istocie, publikacji dotyczących tego problemu jest stosunkowo niewiele - zatem podjęty w badaniach cel jest trafny i aktualny.

Rozprawa przedstawiona mi do oceny posiada konstrukcję typową dla prac doktorskich i obejmuje wstęp, przedstawienie celów i zakresu pracy, opis materiałów i metod, wyniki, dyskusję oraz wnioski. Rozprawę uzupełniają streszczenie w języku polskim i angielskim, wykaz użytych skrótów i pojęć, spis rycin i tabel oraz 175 pozycje piśmiennictwa (w większości bardzo aktualne). Autorka przedstawia ponadto listę pełnotekstowych publikacji, zawierających wyniki przedstawione w rozprawie, w których jest autorką. Należy podkreślić, że w 2 spośród 3 publikacji jest ona pierwszą Autorką. Są to najbardziej prestiżowe czasopisma w swoich dziedzinach – np. aktualny współczynnik IF Journal of Hepatology wynosi 12.486.

Logiczna struktura i tekst wstępu wskazują na uporządkowaną wiedzę Autorki oraz umiejętność jej przedstawienia w sposób czytelny. Autorka we wstępie przedstawia technologiczne uwarunkowania sekwencjonowania półprzewodnikowego, jaką dalej posługuje się w swoich badaniach oraz charakteryzuje klinicznie i genetycznie choroby będące przedmiotem badań. W kolejnym rozdziale mgr inż. Maria Kulecka przedstawia cele pracy. Pierwszym celem, jaki Autorka przyjęła, było opracowanie algorytmów bioinformatycznych służących do analizy danych z sekwencjonowania półprzewodnikowego. Drugim celem, wskazanym przez Autorkę, jest analiza biostatystyczna danych pochodzących od 3 grup pacjentów i identyfikacja wariantów genetycznych leżących u podłoża tych chorób.

W rozdziale „Materiały i metody” Doktorantka charakteryzuje grupy chorych, przedstawia rodzinne historie występowania chorób i charakteryzuje wykorzystywane narzędzia bioinformatyczne. Należy wskazać, że rozdział ten stanowi niespójność w

stosunku do celów pracy. Skoro za cel swoich badań Autorka stawia opracowanie algorytmów bioinformatycznych służących do analizy danych z sekwencjonowania półprzewodnikowego - opis stworzonych metod bioinformatycznych powinien zostać umieszczony w sekcji „Wyniki”, a nie w sekcji „Materiały i Metody”. Czytelnik może ponadto odnieść wrażenie, że metody bioinformatyczne są przedstawione dość skrótowo i nie jestem w pełni przekonany, że opis metodyki zawarty w pracy wystarczyłby do powtórzenia badań mgr inż. Marii Kuleckiej.

W kolejnym rozdziale Doktorantka przedstawia uzyskane wyniki, zestawiając je w formie rycin, tabel i wykresów. Jak wskazano powyżej – brakuje w tej sekcji szczegółowego opisu opracowanych narzędzi bioinformatycznych. Autorka w Wynikach skupia się na ocenie wariantów genetycznych o potencjalnym znaczeniu patogenetycznym, pomijając cel pierwszy. Należy podkreślić, że cel pierwszy bez wątplenia został osiągnięty, albowiem bez niego nie można by prowadzić analiz będących przedmiotem celu drugiego – dlatego w mojej ocenie pominięcie celu pierwszego w Wynikach należy uznać za rodzaj skrótowego myślowego.

W rozdziale „Dyskusja” Autorka krytycznie analizuje dostępne dane literaturowe i przedstawia interpretację własnych wyników, podsumowuje uzyskane wyniki i wyciąga wnioski, przedstawione w opisowej formie w ostatnim, piątym punkcie pracy. Wnioski te odpowiadają tylko częściowo celom pracy z punktu „Cel i zakres pracy”. Po raz kolejny Doktorantka skupia się wyłącznie na drugim celu swojej rozprawy, pomijając cel pierwszy (opracowanie narzędzi bioinformatycznych do analizy danych sekwencjonowania półprzewodnikowego). W mojej ocenie, w Dyskusji brakuje odniesienia własnych wyników Doktorantki do innych platform NGS – w tym przede wszystkim Illuminy. Byłoby niezwykle interesujące, gdyby Doktorantka w trakcie obrony pokusiła się o porównanie tych platform w zakresie przydatności w badaniach nad chorobami o złożonym sposobie dziedziczenia.

Streszczenia, zarówno w języku polskim, jak i w języku angielskim, właściwie prezentują najważniejsze zagadnienia poruszane w rozprawie.

Pomimo sformułowanych powyżej uwag, uważam, że przedstawiona mi do oceny rozprawa stanowi ciekawe, samodzielne, oryginalne i szerokie opracowanie naukowe.

Jej wartość podkreśla fakt, że wyniki opublikowano w prestiżowych, recenzowanych czasopismach, w których bez wątplenia Autorka uniknęła niedoskonałości wytkniętych przeze mnie w niniejszej recenzji. De facto – autorka, zgodnie z obowiązującymi przepisami prawa - mogła wykorzystać swoje prace do przygotowania rozprawy doktorskiej w oparciu o cykl publikacyjny.

W ocenie Recenzenta, praca nie budzi większych zastrzeżeń merytorycznych, a jedynie natury edytorskiej. Należą do nich także dość częste błędy korektorskie (tzw. „literówki”) lub brak obiektów, do których Autorka odwołuje się w tekście (np. na stronie 35 Doktorantka powołuje się na Załącznik nr 2, którego nie udało mi się w pracy odnaleźć).

Uwagi przedstawione powyżej nie dotyczą warstwy merytorycznej pracy. Przedstawiona do recenzji praca jest oryginalnym i samodzielny opracowaniem naukowym. Rozprawa z pewnością odpowiada warunkom określonym w art. 13 ust.1 Ustawy z dn. 14 marca 2003 r o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz stopniach i tytule w zakresie sztuki.

Wierzę, że przedstawiona powyżej argumentacja stanowi wystarczające uzasadnienie do przedstawienia Wysokiej Radzie Centrum Medycznego Kształcenia Podyplomowego wniosku o dopuszczenie mgr inż. Marii Kuleckiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego i wyróżnienie pracy.

Z poważaniem,

