

RECENZJA

pracy doktorskiej mgra Filipa Ambrożkiewicza

*Analiza porównawcza zmienności genetycznej nieswoistych zapaleń jelit
u dzieci i dorosłych w Polsce*

Wybór tematu pracy doktorskiej jest uzasadniony. Diagnostyka i leczenie nieswoistych chorób zapalnych jelit (NChZJ) jest obecnie jednym z ważniejszych wyzwań w gastroenterologii. W ostatnim dziesięcioleciu zwiększyła się zachorowalność zarówno na wrzodziejące zapalenie jelita grubego (WZJG), jak i chorobę Leśniowskiego-Crohna (CLC). Niestety, etiologia tych chorób w dalszym ciągu pozostaje niewyjaśniona. Chociaż wiemy, że najprawdopodobniej są one wypadkową współdziałania czynników środowiskowych, immunologicznych, infekcyjnych i genetycznych. Tym ostatnim mgr Filip Ambrożkiewicz poświęcił swoją uwagę. W tym celu użył w swoich badaniach związanych z pracą doktorską metody badań asocjacyjnych w skali genomu (GWAS) z użyciem technologii mikromacierzy SNP pozwalających na wykrycie różnych wariantów genetycznych o umiarkowanym lub niskim efekcie oddziaływania.

Praca doktorska jest skonstruowana poprawnie, według powszechnie przyjętych standardów. Zwraca uwagę bardzo przejrzyste, zwarte przedstawienie każdej części pracy. Jej wstęp poświęcony jest wprowadzeniu w zagadnienie omawianej tematyki w sposób uporządkowany i interesujący. Doktorant przedstawił aktualną wiedzę na temat kolekcji genomu, ze szczególnym uwzględnieniem polimorfizmu pojedynczego nukleotydu, i badań asocjacyjnych w skali genomu oraz ich znaczenia w chorobach: Leśniowskiego-Crohna (CLC) i wrzodziejącego zapalenia jelita grubego (WZJG).

Podstawą do przeprowadzenia badań są dwie ważne hipotezy naukowe. Pierwsza: za powstanie choroby odpowiadają zmiany sekwencji w wielu genach i druga, że nieswoiste zapalenie jelit (NZJ) może mieć u dzieci odmienne podłoże genetyczne niż u dorosłych. Tym bardziej – jak podkreśla Autor – że NZJ u dzieci różni się istotnie od NZJG u dorosłych zarówno pod względem epidemiologicznym, lokalizacji, jak i ciężkości choroby oraz jej przebiegu klinicznego. Przyczyna tych

różnic nie jest znana, lecz przypuszcza się, że u dzieci w rozwoju tej choroby (w porównaniu do osób dorosłych) większy udział mają czynniki genetyczne niż wpływ czynników środowiskowych.

Powyższe wyniki badań naukowych były podstawą do uzasadnienia wytyczonego przez mgra Filipa Ambrożkiewicza celu pracy – poszukiwania różnic podłoża genetycznego nieswoistych zapaleń jelit u dzieci i dorosłych.

Dla realizacji wytyczonych celów Doktorant przeprowadził badania u 1495 chorych (761 chorych z CLC i 734 chorych z WZJG) zrekrutowanych według tych samych kryteriów w 17 ośrodkach gastroenterologicznych w Polsce. Pełna grupa kontrolna składała się z 934 osób.

W badaniach materiału genetycznego pobranego od pacjentów zastosował nowoczesne metody laboratoryjne. Po wyizolowaniu DNA był on poddany ocenie ilościowej oraz jakościowej, a następnie – procedurze pulowania. Na pulowanym materiale DNA mgr F. Ambrożkiewicz dokonał analizy mikromacierzy, które wskazywały na liczne asocjacje genowe. Następnie zostały one poddane badaniom weryfikacyjnym w technologii dyskryminacji alleli na indywidualnych próbkach DNA. Doktorant uzyskał oryginalne, bardzo interesujące wyniki. Mianowicie z 83 polimorfizmów poddanych weryfikacji 31 osiągnęło korygowany poziom istotności statystycznej, a 52 asocjowały na nominalnym poziomie istotności.

Dzięki tym badaniom mgr F. Ambrożkiewicz zidentyfikował nowy wariant (vs 104P525) w 3'UTR genu BRD2 nieopisywany wcześniej w asocjacji NZJ. Przeprowadzone analizy wykazały, że 22 SNPs asocjowały u dzieci oraz dorosłych, 8 SNPs – w grupie pediatrycznej, a jeden polimorfizm – u chorych dorosłych. Spośród 52 polimorfizmów asocjujących z chorobą na minimalnym poziomie istotności statystycznej: 11 SNPs asocjowało u dzieci i dorosłych, 20 – u chorych dorosłych, a 21 – u dzieci. Badania te wykazały po raz pierwszy różnice w wielogenowej architekturze NZJ między chorymi dziećmi a chorymi dorosłymi.

Pragnę zaznaczyć, że izolacja DNA, pulowanie materiału, wybór polimorfizmów i technologia dyskryminacji alleli oraz genotypowanie były przeprowadzone profesjonalnie. Doktorant użył właściwych metod statystycznych do analizy mikromacierzy oraz analizy częstości występowania alleli i genotypów.

Wyniki przeprowadzonych badań zostały przedstawione w zwięzły i uporządkowany sposób. Mgr F. Ambrożkiewicz przedstawił je w 5 bardzo obszernych, szczegółowych tabelach, pokazujących ogrom pracy, jaki włożył w przeprowadzenie badań. Krótkie podsumowanie w sposób przekonujący pokazuje, że przeprowadzone przez Doktoranta badania okazały się bardzo efektywne w identyfikacji polimorfizmów asocjujących z CLC i WZJG. Jest to oryginalne odkrycie, ponieważ większość z tych polimorfizmów nie była wcześniej opisana. Zwłaszcza interesujące jest odkrycie przez Doktoranta polimorfizmu w obrębie genu BRD2. Wykazanie różnic w strukturze genetycznej pomiędzy dziećmi i dorosłymi chorującymi na NZJ w pełni potwierdziły przypuszczenia i hipotezy, które postawił w tezie doktorskiej.

Na zakończenie recenzji pragnę podkreślić, że praca doktorska mgra Filipa Ambrożkiewicza *Analiza porównawcza zmienności genetycznej nieswoistych zapaleń jelit u dzieci i dorosłych w Polsce* została bardzo starannie zaplanowana i wykonana. Uznanie budzi fakt, że w badaniach oryginalnych nie publikowano dotychczas wyników odnośnie różnic w strukturze genetycznej pomiędzy dziećmi i dorosłym chorującymi na NZJ.

Poza tym muszę podkreślić niezwykle staranne i zwięzłe przygotowanie redakcyjne pracy. Przystudiowałem ją z wielką przyjemnością. Zarówno założenia pracy, metodyka, jej przeprowadzenie, jak i interpretacja wyników zostały bardzo dobrze wykonane, a wyciągnięte wnioski są adekwatne do uzyskanych wyników. Praca ma duży walor poznawczy i być może powyższe wyniki będą miały w przyszłości zastosowanie w praktyce.

Przedstawiona mi do recenzji *Analiza porównawcza zmienności genetycznej nieswoistych zapaleń jelit u dzieci i dorosłych w Polsce* spełnia wszystkie wymagania stawiane pracom doktorskim i w pełni zasługuje na wyróżnienie. Zwracam się do Wysokiej Rady Naukowej Centrum Medycznego Kształcenia Podyplomowego o dopuszczenie mgra Filipa Ambrożkiewicza do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Warszawa, 20 czerwca 2017 r.


.....
prof. dr hab. n. med. Mirosław Jarosz