

Dr hab.n.med. Anna Nowińska, prof. SUM

Katowice 18.11.2023

Katedra i Oddział Kliniczny Okulistyki

Wydział Nauk Medycznych w Zabrze

Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach

RECENZJA

Rozprawy doktorskiej mgr Katarzyny Jaśkiewicz

**„WIELOPOZIOMOWA CHARAKTERYSTYKA MOLEKULARNA REGIONÓW TOPOGRAFICZNYCH
ROGÓWKI W STOŻKU ROGÓWKI”**

Promotor: prof. dr hab. n. med. Marzena Gajęcka

Stożek rogówki jest postępującą, degeneracyjną, niezapalną chorobą rogówki, której przebieg charakteryzują zmiany w jej strukturze prowadzące do jej ścieńczenia i nadmiernego uwypuklenia. Częstość występowania wynosi średnio 1:2000. W wyniku choroby krzywizna rogówki przybiera odbiegający od prawidłowego, stożkowaty kształt. Objawy podmiotowe są zróżnicowane i zależą od zaawansowania zmian chorobowych. Najczęściej występuje rozmazywanie obrazu (poliopia jednooczna), objaw halo wokół źródła światła oraz nadwrażliwość na światło (fotofobia). Postępująca choroba może doprowadzić do znacznego pogorszenia ostrości wzroku i jakości widzenia oraz doprowadzić do konieczności kwalifikacji pacjenta do przeszczepienia rogówki.

Jako recenzent z wielkim uznaniem odnoszę się do wyboru ciekawego i jednocześnie bardzo aktualnego oraz przydatnego z punktu widzenia poznawczego i praktycznego tematu rozprawy, gdyż etiologia choroby nie została dotychczas ustalona. Przypuszczalną przyczyną stożka jest szereg różnych uwarunkowań:



genetycznych, środowiskowych i komórkowych, z których każde może być czynnikiem wyzwalającym rozwój stożka rogówki. Choroba dotyczy osób młodych, często aktywnych zawodowo, a wiąże się niejednokrotnie z pogorszeniem jakości widzenia, zmniejszeniem efektywności pracy oraz pogorszeniem jakości życia pacjentów. Niestety nie ma również metod profilaktycznych tej choroby, a dostępny zabieg sieciowania włókien kolagenowych istoty właściwej „cross-linking” jest wykonywany na etapie klinicznej manifestacji stożka oraz nie wpływa na regres objawów klinicznych.

Przedstawiona przez mgr Katarzynę Jaśkiewicz rozprawa doktorska miała na celu poszerzenie wiedzy na temat zmian molekularnych w poszczególnych regionach topograficznych nabłonka rogówki, w tym w aspektach transkryptomicznych, proteomicznych oraz dotyczących wariantów ekspresji w kodujących i niekodujących częściach genomu. Dodatkowo Autorka przeprowadziła charakterystykę środowiskowych, behawioralnych i socjoekonomicznych czynników ryzyka oraz korelację cech klinicznych pacjentów oraz czynników ryzyka z danymi transkryptomicznymi. Warto podkreślić, że w dotychczasowych badaniach naukowych dotyczących stożka rogówki nie przeprowadzono tak zaawansowanej analizy z uwzględnieniem szczegółowych danych dotyczących nabłonka rogówki. Przedstawiona rozprawa doktorska ma charakter innowacyjny i w sposób istotny wpływa na rozwój wiedzy w tej dziedzinie naukowej.

W skład ocenianej rozprawy doktorskiej wchodzi cykl czterech publikacji, trzech publikacji oryginalnych oraz rozdział w książce:

1. Artykuł I; mgr K. Jaśkiewicz była pierwszą autorką; praca przeglądowa, rozdział „The Genetics of Keratoconus and Related Diseases” w książce „Genetic Diseases of the Eye, 3rd Edition”.
2. Artykuł II; mgr K. Jaśkiewicz była pierwszą autorką; praca oryginalna, „The Impaired Wound Healing Process Is a Major Factor in Remodeling of the Corneal Epithelium in Adult and Adolescent Patients With Keratoconus” w czasopiśmie Invest Ophthalmol Vis Sci.
3. Artykuł III; mgr K. Jaśkiewicz była pierwszą autorką; praca oryginalna, „Non-allergic eye rubbing is a major behavioral risk factor for keratoconus” w czasopiśmie PLoS One.
4. Artykuł IV; mgr K. Jaśkiewicz była pierwszą autorką; praca oryginalna, „Sequence variants contributing to dysregulated inflammatory responses

across keratoconic cone surface in adolescent patients with keratoconus",
w czasopiśmie Front. Immunol.

Rozprawa doktorska została przygotowana w ramach realizacji projektu finansowanego przez Narodowe Centrum Nauki pt.: "Wielopoziomowe badanie molekularne na podstawie laserowej mikrodysekcji rogówek w celu identyfikacji biomarkerów i celów terapeutycznych w stożku rogówki"; OPUS 2018/31/B/NZ5/03280.

Wartość dodatkowa przeprowadzonych badań polega na popularyzacji wyników pod postacią przedruku opublikowanego przez amerykańską Narodową Fundację Stożka Rogówki (ang. The National Keratoconus Foundation).

W artykule I, Autorka przedstawia przegląd dotychczasowego piśmiennictwa opisującego badania nad stożkiem rogówki. Wprowadzenie wyczerpująco wprowadza czytelnika do tematyki rozprawy. Autorka wskazuje i wymienia wyniki dotychczasowych publikacji dotyczących tematyki stożka. Rozdział w wyczerpujący sposób uzasadnia konieczność i zasadność przeprowadzonych badań.

Artykuł II to praca oryginalna, w której Autorka postawiła hipotezę, że zmiany molekularne nabłonka w stożku rogówki różnią się w poszczególnych regionach topograficznych i mają wpływ na przebudowę nabłonka w przebiegu choroby. Materiał badany stanowiły próbki nabłonka pozyskane od 23 pacjentów poddawanych zabiegowi sieciowania włókien kolagenowych. Najważniejszy wniosek pracy dotyczył wpływu charakterystyki opisanych regionów morfologicznych na nieprawidłowy proces gojenia, przebudowę nabłonka oraz pośrednio na powstawanie charakterystycznego fenotypu stożka.

Artykuł III to praca oryginalna obejmująca analizę wieloczynnikową ryzyka stożka rogówki. W badaniu wzięło udział 118 pacjentów ze stożkiem oraz 73 osoby z grupy kontrolnej. Wykazano, że pocieranie oczu powoduje uszkodzenie nabłonka, co wyzwała stres komórkowy, który poprzez apoptozę, migrację i adhezję komórek kształtuje fenotyp stożka.

Artykuł IV to praca oryginalna, w której wykorzystano metodę sekwencjonowania całego genomu celem przeprowadzenia analizy pełnego zestawu

wariantów genetycznych w DNA pacjentów ze stożkiem. Materiał badawczy stanowił nabłonek rogówki czterech pacjentów ze stożkiem.

Podsumowując osiągnięcia na podstawie cyklu publikacji uważam, że warto podkreślenia są następujące punkty:

1. Wyodrębnienie po raz pierwszy regionów topograficznych i molekularnych nabłonka rogówki w stożku rogówki (centralny, pośredni i obwodowy). Zdefiniowanie opisanych regionów pod kątem morfologicznym, molekularnym i klinicznym.
2. Wykazanie najważniejszych czynników ryzyka rozwoju stożka rogówki oraz potwierdzenie znamiennej roli pocierania oczu. Ma to ogromną wartość praktyczną oraz fakt ten został doceniony przez amerykańską Narodową Fundację Stożka Rogówki (ang. The National Keratoconus Foundation).
3. Opisanie licznych wariantów sekwencji kodujących i niekodujących w genach mogących mieć znaczenie w procesach wrodzonej i adaptacyjnej odpowiedzi układu odpornościowego, co wskazuje na aspekty genetyczne w podłożu zapalnym stożka rogówki. Wykazano, że stożek w dużej mierze może być efektem wzajemnego oddziaływania wielu wariantów, które zaburzają procesy fizjologiczne rogówki. Te obserwacje pozwalają na poznanie patofizjologii tej choroby.

W części dysertacji „Podsumowanie i wnioski” Autorka przedstawia w sposób zwięzły najważniejsze wnioski z przeprowadzonych badań. Wnioski w pełni odpowiadają na założenia przedstawione w calach rozprawy. Uważam, że wartościowe byłoby umieszczenie w tej części pracy zwięzłego opisu ograniczeń prowadzonych analiz oraz przyszłych kierunków badań. Niemniej jednak te opisy znajdują się każdorazowo w przedstawionych anglojęzycznych publikacjach: limitations of the study and future studies/further investigations. Brak takiego opisu w podsumowaniu nie umniejsza w żaden sposób mojego bardzo pozytywnego odbioru rozprawy doktorskiej.

Piśmiennictwo, które zawiera 53 pozycje, zostało starannie i poprawnie dobrane pod kątem tematu pracy i prawidłowo wykorzystane w tekście rozprawy.

Oceniając stronę edytorską rozprawy stwierdzam, że praca napisana jest zwięźle i przejrzystie.

Reasumując, Doktorantka dowiodła, że potrafi prawidłowo zaplanować, wykonać i opracować zamierzony problem badawczy. Autorka wykazała się należytych przygotowaniem merytorycznym, starannością i dociekliwością badawczą. Warto podkreślić, że dotychczas żaden z badaczy w dostępnym piśmiennictwie nie przeprowadził tak wielowątkowego projektu naukowego dotyczącego stożka rogówki. Dzieło ma zatem dużą wartość naukową oraz praktyczną.

Z przekonaniem stwierdzam, że rozprawa doktorska mgr Katarzyny Jaśkiewicz zatytułowana: „Wielopoziomowa charakterystyka molekularna regionów topograficznych rogówki w stożku rogówki” spełnia warunki, jakim powinna odpowiadać rozprawa doktorska w myśl art. 179 ust. 1 ustawy z dnia 3 lipca 2018 r (przepisy wprowadzające Ustawę – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce; Dz.U. z 2018 r., poz. 1669 z późn. zmianami). W oparciu o przedstawioną wyżej opinię mam zaszczyt zwrócić się do Rady Naukowej Instytutu Genetyki Człowieka PAN z wnioskiem o przyjęcie rozprawy jako rozprawy doktorskiej i dopuszczenie mgr Katarzyny Jaśkiewicz do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Jednocześnie, z uwagi na oryginalny i niezwykle nowatorski charakter pracy, wysokie walory merytoryczne oraz bardzo rzetelny sposób przeprowadzenia badania wnoszę o wyróżnienie recenzowanej rozprawy.

19.11.2023

Anna Nowińska

Dr hab. n. med.
Anna Nowińska
specjalista okulistyki
1984027

ace