



UNIwersytet
MEDYCZNY
W ŁODZI



Łódź, 27.11.2023 r.

Prof. dr hab. n. med. Ireneusz Majsterek
Kierownik Zakładu i Katedry
Zakład Chemii i Biochemii Klinicznej
Katedra Chemii i Biochemii Medycznej
Uniwersytet Medyczny w Łodzi

Recenzja pracy doktorskiej

mgr Katarzyny Jaśkiewicz

Wielopoziomowa charakterystyka molekularna regionów topograficznych rogówki w stożku
rogówki

Praca doktorska wykonana pod kierunkiem

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



Przedłożona do recenzji praca doktorska Pani mgr Katarzyny Jaśkiewicz pt.: „Wielopoziomowa charakterystyka molekularna regionów topograficznych rogówki w stożku rogówki”, została wykonana pod opieką naukową promotora prof. dr hab. n. med. Marzeny Gajęckiej, w Instytucie Genetyki Człowieka Polskiej Akademii Nauk. Rozprawa doktorska została przedstawiona do recenzji, zgodnie z Ustawą z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o Szkolnictwie Wyższym i Nauce.

Rozprawa doktorska została przedstawiona do recenzji, jako praca pisemna ujęta w postać zbioru czterech oryginalnych publikacji opublikowanych w roku 2023, ma formę spójnego cyklu artykułów opublikowanych w czasopismach naukowych z listy JCR, które są ze sobą jednoznacznie powiązane tematycznie. Trzy prace ukazały się w renomowanych czasopismach naukowych z bazy Web of Science, uwzględnionych na liście czasopism punktowanych MNiSW, o łącznej punktacji IF = 15,40 i MEiN = 420 punktów, ostatnia praca została zaakceptowana do publikacji. Opublikowanie manuskryptów w renomowanych czasopismach, o zasięgu międzynarodowym oznacza, iż musiały zostać spełnione wymagania stawiane przez edytorów oraz uzyskano akceptację ze strony recenzujących artykuł ekspertów. Dodatkowym potwierdzeniem wysokiej jakości prezentowanych wyników badań jest sumaryczny IF. Publikacje wchodzące w skład rozprawy doktorskiej są wieloautorskie, a Doktorantka we wszystkich pracach jest pierwszym autorem, co potwierdza Jej dominujący wkład w realizację zadań badawczych oraz przygotowanie i opracowanie wyników. W skład cyklu pracy doktorskiej wchodzi publikacje:

1. **Jaśkiewicz K**, Maleszka-Kurpiel M, Matuszewska E, Kabza M, Rydzanicz M, Malinowski R, Ploski R, Matysiak J, Gajęcka M. The Impaired Wound Healing Process Is a Major Factor in Remodeling of the Corneal Epithelium in Adult and Adolescent Patients with Keratoconus. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2023 Feb 1;64(2):22. doi: 10.1167/iovs.64.2.22
2. **Jaśkiewicz K**, Maleszka-Kurpiel M, Michalski A, Ploski R, Rydzanicz M, Gajęcka M. Non-allergic eye rubbing is a major behavioral risk factor for keratoconus. *PLoS One*. 2023 Apr 13;18(4): e0284454. doi: 10.1371/journal.pone.0284454.
3. **Jaśkiewicz K**, Maleszka-Kurpiel M, Kabza M, Karolak JA and Gajęcka M. Sequence variants contributing to dysregulated inflammatory responses across keratoconic cone surface in adolescent patients with keratoconus. *Front. Immunol*. 2023 Jul 6;14:1197054. doi: 10.3389/fimmu.2023.1197054.



4. **Jaskiewicz K** and Gajecka M. The Genetics of Keratoconus and Related Diseases. W Traboulsi E, Utz V, and Kha A. Genetic Diseases of the Eye 3rd Edition. Oxford University Press, Praca zaakceptowana do publikacji (13-09-2023).

Wybrany zbiór publikacji został poprzedzony szczegółowym wprowadzeniem, w którym Doktorantka zaprezentowała logicznie uporządkowane informacje z zakresu ogólnej tematyki rozprawy. Stożek rogówki (KTCN) jest postępującym schorzeniem degeneracyjnym rogówki oka, a choroba charakteryzuje się, pogłębiającym ścięciem rogówki. Powstające nieprawidłowości prowadzą do aberracji optycznych, co przyczynia się do upośledzenia wzroku. KTCN jest uznawany za chorobę wieloczynnikową, a przyczyny jego powstawania nie są w pełni znane.

Cele pracy zostały sformułowane jasno, są bardzo aktualne i mają duże wartości praktyczne. W pracy postawiono hipotezę, iż przebudowa nabłonka rogówki w przebiegu KTCN stanowi istotny element obrazu klinicznego choroby. Dotychczas nie poświęcono wystarczającej uwagi tej warstwie rogówki, a charakterystyczne zmiany grubości nabłonka, nie były uwzględniane podczas przeprowadzonych badań molekularnych.

Celem badań Doktorantki było poszerzenie wiedzy na temat zmian molekularnych nabłonka rogówki, a także identyfikacja czynników środowiskowych warunkujących fenotyp KTCN.

Aby zrealizować postawiony cel pracy zrealizowano następujące zadania badawcze:

1. Przegląd danych literaturowych dotyczących klinicznych, środowiskowych i genetycznych aspektów KTCN.
2. Charakterystyka regionów topograficznych w nabłonku rogówki u pacjentów KTCN.
3. Analiza wpływu czynników środowiskowych, behawioralnych i socjoekonomicznych na ryzyko wystąpienia stożka rogówki u pacjentów polskich.
4. Ocena zróżnicowania wariantów sekwencji DNA w regionach topograficznych rogówki.

W strukturze przedstawionej do oceny dysertacji wyróżnić można, doskonale przygotowane wprowadzenie do opublikowanych prac stanowiących rozprawę doktorską, w którym umieszczono kolejno, wykaz aktywności naukowej Doktorantki, wstęp do pracy, wyszczególnione cele rozprawy doktorskiej, omówienie prac włączonych do cyklu publikacji stanowiących rozprawę doktorską, podsumowanie i wnioski, streszczenie w języku polskim i angielskim, wykaz piśmiennictwa oraz oświadczenia współautorów publikacji. Wykaz osiągnięć naukowych mgr Katarzyny Jaśkiewicz



zawiera listę publikacji naukowych (6 pozycji) oraz prezentacji plakatowych (20 pozycji), a także informację o kontynuacji prac badawczych podjętych w doktoracie poprzez realizację grantu NCN Preludium pt. „*Metyłom warstw i regionów topograficznych rogówki w stożku rogówki, badany z wykorzystaniem sekwencjonowania całego genomu*”, w którym Doktorantka jest kierownikiem projektu.

Należy stwierdzić, iż publikacje wchodzące w skład rozprawy doktorskiej zostały logiczne i prawidłowo tematycznie dobrane, dlatego stanowią kompleksową całość. Dobór piśmiennictwa uzupełniającego obejmuje najważniejsze pozycje literaturowe z zakresu prowadzonych badań, zacytowano łącznie 53 publikacje naukowe. Należy podkreślić, iż cytowane publikacje naukowe są adekwatne do charakteru pracy doktorskiej, a uzyskane wyniki zinterpretowano i przedyskutowano prawidłowo. Dlatego, od strony formalnej przedstawiona do recenzji dysertacja nie budzi zastrzeżeń. Tytuł pracy koresponduje z wyznaczonym celem i treścią rozprawy, a wstęp stanowi bardzo dobre wprowadzenie w zakres przeprowadzonych badań, nakreślając w zarysie genezę powstania pracy. Przegląd literatury oraz omówienie prac włączonych do cyklu publikacji stanowiących rozprawę doktorską jest wyczerpujące i zawiera ich wyjaśnienie oraz wyczerpującą charakterystykę.

W toku realizacji pracy doktorskiej będącej wynikiem powiązanego tematycznie cyklu 4 publikacji, podjęto się równoczesnej analizy różnych aspektów biologicznych i danych pochodzących z wysokoprzepustowych analiz omicznych w celu lepszego zrozumienia procesów biologicznych leżących u podstaw choroby. W przeprowadzonych badaniach uwzględniono zróżnicowanie cech morfologicznych w rogówce, po raz pierwszy wyznaczając trzy regiony w obrębie nabłonka rogówki i wprowadzając termin regionu topograficznego. W trakcie realizacji pracy wykorzystano technikę sekwencjonowania całego genomu, która do tej pory nie była stosowana w badaniach nad KTCN.

W podsumowaniu, do najważniejszych osiągnięć Doktorantki należy zaliczyć autorskie i nowatorskie wyniki, które doprowadziły do sformułowania następujących wniosków końcowych:

1. Jedynie wielopoziomowe analizy/badania molekularne i łączenie aspektów różnych dziedzin nauki daje możliwość pełniejszego zrozumienia aspektów biologicznych w złożonej naturze KTCN.
2. Charakterystyka trzech regionów topograficznych rogówki, pozwoliła na wskazanie mechanizmu przebudowy nabłonka rogówki w KTCN, w którym kluczowymi



elementami są rozregulowane ścieżki przejścia epitelialno-mezenchymalnego, komunikacji komórka-komórka i interakcji komórka-macierz zewnątrzkomórkowa, biorące udział w procesie gojenia ran i pośrednio wpływające na powstanie charakterystycznego fenotypu stożka.

3. Pocieranie oczu powoduje uszkodzenie nabłonka rogówki i wyzwała stres komórkowy, który poprzez swój wpływ na apoptozę, migrację i adhezję komórkową kształtuje fenotyp KTCN.
4. Wskazano 35 *loci* chromosomowych istotnie wzbogaconych w rozpoznane warianty sekwencji kodujących i niekodujących, specyficzne dla KTCN, w tym regionach 5q, 9q i 16q, poprzednio rozpoznanych jako powiązane etiologicznie z KTCN.

W ocenie merytorycznej realizacji zmierzonych celów pracy należy podkreślić wyśmienicie zaplanowany oraz przemyślny proces badawczy, który pozwolił na kompleksowe obserwacje, które w znacznym stopniu mogą się przysłużyć do projektowania i praktycznego zastosowania uzyskanych autorskich i nowatorskich wyników. W podsumowaniu należy jednoznacznie stwierdzić, że cel pracy obejmuje jeden z najważniejszych kierunków badań w dziedzinie okulistyki, jakim jest poszukiwanie molekularnych czynników ryzyka w patogenezie stożka rogówki, które jest postępującym schorzeniem degeneracyjnym oka. Recenzowana rozprawa Pani mgr Katarzyny Jaśkiewicz ma niewątpliwie wysoki walor aplikacyjny wynikający z aktualności poruszanych zagadnień i jest przykładem doskonałego modelu współpracy Promotora oraz Doktorantki, która korzystając z wieloletniego oraz bogatego warsztatu naukowego swojego Promotora osiągnęła wymierne efekty, które z całą pewnością określić można miarą sukcesu.

Analizując poziom ekspresji genów specyficznych dla centralnego regionu topograficznego nabłonka rogówki, Doktorantka wykazała nadekspresję molekularnych markerów apoptozy, białek opiekuńczych oraz odpowiedzi na niesfałdowane białka, które mogą być skorelowane z postępującym stresem na poziomie komórkowym. W odniesieniu do otrzymanych wyników, chciałbym zapytać Doktorantkę o określenie potencjalnej roli mechanizmu odpowiedzi na błędne sfałdowane białka (ang. *Unfolded Protein Response, UPR*) w patogenezie KTCN, którego aktywacja zaangażowana jest w utrzymanie homeostazy komórkowej, ale który może również stanowić jeden z molekularnych mechanizmów prowadzących do nadmiernej apoptozy i degeneracji tkanek oka?



Opiniowana rozprawa doktorska zasługuje na wysokie uznanie, gdyż świadczy o bardzo dobrym przygotowaniu merytorycznym Doktorantki, a jasno określone cele pozwoliły na uzyskanie istotnych i wiarygodnych wyników. Ze względu na wysoki poziom naukowy tej dysertacji, wnioskuję o wyróżnienie recenzowanej pracy doktorskiej. Przedstawioną rozprawę doktorską cechuje wysoka jakość badań oraz szczególne walory aplikacyjne. W efekcie przeprowadzonych prac badawczych potwierdzono złożoność podłoża genetycznego i molekularnego KTCN, a uzyskane wyniki pozwoliły wyciągnąć m.in. wniosek o jego wpływie na obraz kliniczny stożka. Ponadto, bezpośrednim walorem aplikacyjnym realizowanej pracy doktorskiej jest fakt dalszej kontynuacji badań w ramach grantu NCN Preludium, co może stanowić istotny wkład w rozwój okulistyki oraz zasługuje na wyróżnienie, a przede wszystkim świadczy o praktycznych możliwościach wykorzystania uzyskanych przez Panią mgr Katarzynę Jaśkiewicz wyników badań.

Dodatkowo, w podsumowaniu uzasadnienia należy podkreślić, iż rozprawa doktorska została zrealizowana w ramach realizacji projektu NCN OPUS finansowanego przez Narodowe Centrum Nauki pt. „Wielopoziomowe badanie molekularne na podstawie laserowej mikrodysekcji rogówek w celu identyfikacji biomarkerów i celów terapeutycznych w stożku rogówki”, którego kierownikiem była promotor rozprawy Pani prof. dr hab. n. med. Marzena Gajęcka.

Reasumując stwierdzam, że przedstawiona do oceny rozprawa doktorska spełnia warunki określone w Ustawie z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o Szkolnictwie Wyższym i Nauce, dlatego mam zaszczyt i przyjemność przedstawić Radzie Naukowej Instytutu Genetyki Człowieka PAN wniosek o dopuszczenie Pani mgr Katarzyny Jaśkiewicz do dalszych etapów postępowania doktorskiego oraz wnioskuję o wyróżnienie pracy.

Z poważaniem,

KIEROWNIK
Katedry Chemii i Biochemii Medycznej
Wydział Lekarski Uniwersytetu Medycznego w Łodzi
[Signature]
prof. dr hab. n. med. Ireneusz Majsterok