



Dr hab. Witold Szaflarski

Collegium Anatomicum, ul. H. Święcickiego 6, 60-781 Poznań
e-mail: witold.szaflarski@gmail.com; phone: +48 602 311 066

5 grudnia 2019 r.

RECENZJA MANUSKRYPTU PRACY DOKTORSKIEJ
PANI MAGISTER MAŁGORZATY CHMIELEWSKIEJ

pt.: Oceny związku globalnej metylacji gDNA oraz lokalnej metylacji wysp CpG genów receptorów estrogenowych z predyspozycją do występowania skoliozy idiopatycznej i jej postaci klinicznej

Pani magister Małgorzata Chmielewska wykonywała swoją pracę doktorską pod kierunkiem pani profesor Małgorzaty Kotwickiej w Katedrze i Zakładzie Biologii Komórki naszego Uniwersytetu. Promotorem pomocniczym był pan doktor Piotr Janusz z Kliniki Chorób Kręgosłupa i Ortopedii Dziecięcej również naszego Uniwersytetu. Badania do przedstawionego doktoratu finansowane były w ramach programu SONATA Narodowego Centrum Nauki uzyskanego przez pana doktora Piotra Janusza.

Pani magister Małgorzata Chmielewska ukończyła studia w naszym Uniwersytecie na kierunku Biotechnologia medyczna (lata 2009-2014). Po ukończeniu studiów I i II stopnia, rozpoczęła w 2014 roku studia doktoranckie, które realizowała w Katedrze i Zakładzie Biologii Komórki. Obecnie pani magister Małgorzata Chmielewska pracuje na etacie asystenta w tym samym Zakładzie.

Pani magister Małgorzata Chmielewska jest aktywnym członkiem naszej akademickiej społeczności. Udziela się na polu naukowym, dydaktycznym i organizacyjnym. Prowadzi zajęcia dydaktyczne zarówno w języku polskim jak i w języku angielskim. Zajęcia dydaktyczne obejmują takie przedmioty jak między innymi biologia komórki, biologia molekularna, czy techniki biologii molekularnej. Pani Małgorzata koordynuje również pracę studentów wykonujących praktyki w Katedrze i Zakładzie Biologii Komórki. Jest również opiekunem koła naukowego w tym samym Zakładzie. Współorganizowała pracownię Zakładu Inżynierii Genetycznej oraz Pracowni Epigenetyki. Jej doktorat jest zatem jednym z owoców funkcjonowania powyższych jednostek badawczych.

Moim zdaniem dorobek dydaktyczny oraz organizacyjny można uznać za bardzo dobry.

Tematyka doktoratu pani Małgorzaty Chmielewskiej dotyczyła „Oceny związku globalnej metylacji gDNA oraz lokalnej metylacji wysp CpG genów receptorów estrogenowych z predyspozycją do występowania skoliozy idiopatycznej i jej postaci klinicznej”. Tematyka ta łączy zatem badania podstawowe z elementami klinicznymi. Zatem poza samymi walorami poznawczymi można przypuszczać, że wyniki uzyskane podczas pracy nad doktoratem przeniosą się na lepsze zrozumienie procesów chorobowych i w konsekwencji na zwiększenie efektywności rozpoznawania choroby i jej leczenia.

Na podstawie przeglądu literaturowego i obecnej wiedzy medycznej pani magister Małgorzata Chmielewska postawiła następujące hipotezy badawcze:

- czynniki epigenetyczne mają znaczenie w etiopatogenezie skoliozy idiopatycznej,
- istnieją różnice w metylacji globalnej gDNA pomiędzy pacjentami ze skoliozą idiopatyczną a zdrową populacją
- istnieją różnice w metylacji globalnej gDNA i metylacji genowo specyficznej pomiędzy pacjentami z różną postacią kliniczną skoliozy idiopatycznej,
- występują różnice w metylacji genowo specyficznej pomiędzy mięśniami po stronie wypukłej i wklęsłej skrzywienia.

Z punktu widzenia naszej obecnej wiedzy dotyczącej skoliozy idiopatycznej oraz możliwości zastosowania technik z zakresu biologii molekularnej, w tym epigenetyki, powyższe założenia mają istotny sens badawczy. Pani magister Małgorzata Chmielewska poprawnie i rzetelnie sformułowała problemy i hipotezy badawcze.

Na podstawie przeprowadzonych badań autorka manuskryptu przedstawiła następujące wnioski:

- poziom metylacji globalnej genomowego DNA pacjentek ze skoliozą idiopatyczną nie różni się istotnie od jego poziomu w zdrowej populacji,
- pacjentki z różnym obrazem klinicznym SI nie różnią się znamienne poziomem metylacji globalnej genomowego DNA, co nie stwarza możliwości wykorzystania tej analizy do prognozowania przebiegu tej patologii,

- wzór metylacji siedmiu badanych dinukleotydów CpG gDNA w obrębie regionów regulatorowych T-DMR1 i T-DMR2 genu *ESR1* pacjentek ze skoliozą idiopatyczną różni się znamienne pomiędzy mięśniami powierzchniowymi a głębokimi grzbietu, różnicy takiej nie wykazuje poziom metylacji promotora 0N i eksonu 0N genu *ESR2*,
- pacjentki operowane z powodu skoliozy idiopatycznej wykazują wyższy poziom metylacji dinukleotydów CpG gDNA w obrębie regionów regulatorowych genów *ESR1* i *ESR2* w mięśniach głębokich grzbietu po stronie wypukłej skrzywienia, w porównaniu do strony wklęsłej, co może się wiązać z etiopatogenezą SI,
- analiza wzoru metylacji dinukleotydów CpG gDNA w obrębie regionów regulatorowych genów *ESR1* i *ESR2* wykonana w mięśniach grzbietu pacjentek ze skoliozą idiopatyczną wskazuje na obecność dinukleotydów CpG, których poziom metylacji wiąże się z fenotypem klinicznym skoliozy,
- zaobserwowane w mięśniach grzbietu pacjentek operowanych z powodu skoliozy idiopatycznej zależności pomiędzy poziomem metylacji w obrębie regionów regulatorowych genów *ESR1* i *ESR2*, a ekspresją tych genów wskazują, że ten rodzaj modyfikacji genomu jest istotnym czynnikiem mogącym wpływać na odpowiedzi badanych tkanek na estrogeny.

Powyższe wyniki mogły zostać wykonane dzięki bardzo dobremu warsztatowi badawczemu pani magister Małgorzaty Chmielewskiej oraz jej opiekunów, pani profesor Małgorzaty Kotwickiej oraz pana doktora Piotra Janusza. Narzędzia badawcze zostały dobrane odpowiednio, a pani magister Małgorzata Chmielewska pokazała, że umie z nich korzystać.

Pani magister Małgorzata Chmielewska wykorzystwała szereg technik badawczych, które niejednokrotnie są dość skomplikowane w wykonaniu i wymagają żmudnej optymalizacji. Mam tutaj na myśli przede wszystkim ocenę poziomu metylacji genomowego DNA. Moim zastrzeżeniem jest tutaj jednak brak zastosowania nowoczesnych metod sekwencjonowania typu NGS, dzięki którym ocena metylacji byłaby jeszcze bardziej szczegółowa i obejmująca analizę całego genomu. Mam nadzieję, że doktorantka w przyszłości będzie próbowała wykorzystać tą metodę w swojej pracy badawczej.

Sam manuskrypt pracy został przygotowany starannie. Zawiera wszystkie tradycyjne części wraz z obszerną cytowaną literaturą (245 pozycji). Rysunki i tabele również zostały przygotowane starannie i moim zdaniem dobrze obrazują uzyskane wyniki jak i są powiązane z założeniami badawczymi.

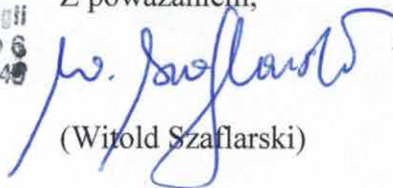
Uzyskane przez panią Małgorzatę Chmielewską wyniki z pracy doktorskiej zostały częściowo opublikowane i zaprezentowane w postaci doniesień zjazdowych. Pani Małgorzata jest współautorką 6 publikacji naukowych, w tym cztery prace posiadają tzw. „impact factor” (sumaryczny IF wynosi 8,948). Jedną z prac, której pani Małgorzata jest współautorką, opublikowaną w czasopiśmie „Spine” bezpośrednio nawiązuje do tematyki podjętej przez doktorantkę w ramach studiów doktoranckich (Spine, Vol. 39, nr 26, s. E1599-E1607).

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska spełnia warunki określone w art. 13 Ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. nr 65, poz. 595 z późn. zm.).

Moim zdaniem dorobek naukowy pani magister Małgorzaty Chmielewskiej jest rzetelny i wystarczający do ubiegania się o uzyskanie stopnia naukowego doktora. Biorąc zatem pod uwagę całościowy dorobek naukowy, dydaktyczny i organizacyjny pani magister Małgorzaty Chmielewskiej oceniam go bardzo dobrze i wnioskuję do władz uniwersyteckich o przejście do kolejnych kroków w jej przewodzie doktorskim. Wnoszę również do Rady Wydziału Nauk o Zdrowiu Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu o stosowne wyróżnienie pracy z uwagi na nowatorskie podejście w opracowaniu ważnych zagadnień etiopatogenezy skolioz idiopatycznych.

UNIwersytet Medyczny
im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu
Katedra i Zakład Histologii i Embriologii
60-781 Poznań, ul. Święcickiego 6
tel. 061 854 64 55, fax 061 854 64 49

Z poważaniem,



(Witold Szaflarski)