



UNIwersytet Medyczny

IM. PIASTÓW ŚLĄSKICH WE WROCLAWIU

Wrocław, 24. 12. 2018

Recenzja

rozprawy doktorskiej Pana lek. med. Bernarda Prudela

pt. „ Trigonocefalia- epidemiologia oraz uwarunkowania genetyczne w materiale

Kliniki Chirurgii Plastycznej w Polanicy Zdrój”

przygotowana na podstawie decyzji

Rady Wydziału Lekarsko-Stomatologicznego

Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu

Rozprawa doktorska Pana lek. med. Bernarda Prudela jest wynikiem rozległych badań nad epidemiologią oraz molekularnym podłożem trigonocefalii, rodzaju kraniosynostozy - wady rozwojowej czaszki. Autor podjął się badań nad tym problemem z powodów poznawczych z uwagi na brak dostatecznej wiedzy o patomechanizmach wad kości czaszki oraz wiedzy praktycznej mającej znaczenie kliniczne i epidemiologiczne, a także z uwagi na heterogenność podłoża molekularnego kraniosynostoz. Powyższe wstępne uwagi świadczą o trafności podjętej przez Doktoranta problematyki.

Znajomość przyczyny zaburzeń rozwojowych u ludzi pozwala określić rokowanie, właściwe dalsze postępowanie diagnostyczne, terapeutyczne i rehabilitacyjne oraz umożliwia zastosowanie odpowiedniej profilaktyki współistniejących chorób. Właściwe rozpoznanie ma także istotne znaczenie dla poradnictwa rodzinnego. Poznawanie przyczyn zaburzeń rozwojowych u ludzi ma też wymiar naukowy – pozwala lepiej poznać patogenezę chorób i potencjalnie stwarza możliwość leczenia czy zapobiegania schorzeniom w przyszłości. Zaburzenia rozwojowe dotyczące niejednokrotnie pacjentów ze złożoną i skomplikowaną historią chorobową określane są jako choroby rzadkie. Choroba rzadka, zwana inaczej chorobą sierocą (*orphan disorder*), oznacza jednostkę chorobową, która występuje w

populacji z częstością 1 na 2000 osób lub rzadziej. Czasem nawet częstość występowania tych chorób wynosi 1:100.000 czy 1:500.000 urodzeń – wtedy nazywamy je chorobami ultrarzadkimi. Zdefiniowano blisko 8 tys. chorób rzadkich, których lista jest nadal otwarta (www.orpha.net). WWK również z definicji częstości występowania należą do chorób rzadkich.

Etiologia zaburzeń rozwoju jest niezwykle złożona, dlatego ich diagnostyka niejednokrotnie wymaga długich, pracochłonnych oraz kosztownych badań, które nie zawsze kończą się sukcesem. Mnogość oraz różnorodność zespołów dysmorficznych, stosunkowo niska częstość ich występowania, trudności w ocenie cech dysmorficznych, oraz zmienne cechy fenotypowe w tej samej chorobie powodują trudności w sformułowaniu ostatecznego rozpoznania.

Kraniosynostoza to przedwczesne zarośnięcie jednego lub wielu szwów czaszkowych. Jest drugą co do częstości występowania wadą twarzo-czaszki, po wadach rozszczepowych. Może dotyczyć każdego z głównych szwów sklepienia czaszki - strzałkowego, wieńcowego, czołowego i węglowego. Konsekwencją przedwczesnej ossyfikacji i zarośnięcia szwu czaszkowego jest zniekształcenie czaszki, będące następstwem ograniczonego wzrostu w kierunku prostopadłym do zarośniętego szwu i kompensacyjnym wzrostem w kierunku równoległym. Kraniosynostozy klasyfikujemy według różnych podziałów biorąc pod uwagę: liczbę oraz rodzaj szwów ulegających zarośnięciu, patogenezę schorzenia, a także występowanie dodatkowych wad.

Ocena pracy doktorskiej:

Ocena dysertacji obejmowała ocenę merytoryczną i metodologiczną pracy oraz podsumowanie i wnioski końcowe.

Przedstawiona do recenzji rozprawa obejmuje 76 stron z tradycyjnym podziałem na wprowadzenie, założenia i cele pracy, materiał i metody badań, wyniki oraz dyskusję i wnioski, wykaz stosowanych skrótów, spis używanego piśmiennictwa i streszczenie w języku polskim i angielskim oraz spis tabel (17) i rycin (19).

Badania wykonane przez Doktoranta wykonywane były w dwóch jednostkach naukowych: w Klinice Chirurgii Plastycznej Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu (część kliniczna) oraz Katedrze i Zakładzie Biochemii i Biologii Molekularnej Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu (część molekularna). Badania, które są podstawą rozprawy doktorskiej Pana lek. med. Bernarda Prudela były finansowane ze statutowego projektu badawczego Kliniki Chirurgii Plastycznej (ST-975). Badania naukowe lek.med. Bernarda Prudela uzyskały zgodę Komisji Bioetycznej przy Uniwersytecie Medycznym we Wrocławiu.

We Wprowadzeniu autor szczegółowo przedstawił kliniczne i molekularne podstawy zagadnień, którymi zajął się w swojej pracy badawczej: definicje i klasyfikację kraniosynostoz z wyszczególnieniem trigonocefalii, jego patomorfologicznych podstaw, etiopatogenezy, epidemiologii oraz leczenia. Na uwagę zasługuje przedstawianie etapów rozwoju czaszki u człowieka oraz fizjologii rozwoju szwu czaszkowego, co jest uzasadnione w tej dysertacji podjęciem badań nad etiologią trigonocefalii. We wstępie Doktorant czytelnie wyjaśniała zawile aspekty kliniczne kraniosynostoz na dobrze wykonanych i logicznych rycinach.

Szczególnie wartościowe pod względem edukacyjnym jest dokładne opisanie przez Pana lek. med. Bernarda Prudela, metod operacyjnych leczenia trigonocefalii, co jest zrozumiałe z uwagi na główny temat pracy i wykształcenie medyczne Doktoranta.

Spośród uwag merytorycznych muszę podkreślić jedną – dotyczy ona istotności stosowania sformułowania „niepełnosprawność intelektualna” zamiast określenia „upośledzenie umysłowe”, użytego kilkakrotnie przez doktoranta w swojej pracy. Korzystając z sformułowania „osoba z niepełnosprawnością intelektualną”, bardziej precyzyjnie oddajemy definicję zaburzenia rozwoju intelektualnego. Osoba niepełnosprawna jest w ten sposób postrzegana, nie tylko jako jednostka z problemami chorobowymi, wymagająca odpowiedniej opieki medycznej, ale jako członek społeczności - osoba, której prawa człowieka dotyczą w takim samym stopniu jak reszty społeczeństwa. Stosowana terminologia niepełnosprawności intelektualnej jest o tyle ważna, że kształtuje sposób myślenia społeczeństwa o istocie niepełnosprawności i o osobach z NI, postrzegając ich jako ludzi z konkretnym problemem medycznym, jednym z wielu spośród tysięcy, jakich człowiek może doświadczyć. Ponadto na stronie 12 Doktorant pisze: „Kraniosynostozy zespołowe mogą odpowiadać za 25% wszystkich przypadków ... i mogą być rezultatem jednego z ponad 150 znanych monogenowych zespołów wad.“. Należałoby dodać również chromosomowych (znamy kilka dobrze opisanych zespołów chromosomowych, w obrazie których współwystępuje kraniosynostoza). Na usprawiedliwienie Doktoranta zaznaczę, że w innych rozdziałach opisuje on przyczyny zarówno monogenowe, jak i chromosomowe zespołów z kraniosynostozą.

Spośród uwag redakcyjnych w tej części dysertacji, jaką mam do przemyślenia, to pisownia nazw zespołów dysmorficznych składających się co najmniej dwóch nazwisk zachodnich naukowców – lekarzy. Uważam, że powinniśmy pisać zespół Antleya i Bixlera (zamiast Antley-Bixlera), czy zespół Saethrego i Chotzena itp.

Wprowadzenie stanowi szczegółowe i rzetelne omówienie poruszanych zagadnień, w oparciu o szeroką i aktualną literaturę i pozwala czytelnikowi na zapoznanie się z

problemami, na których Doktorant skupia się w swojej pracy badawczej. Przedstawiona wnikliwa analiza aktualnej literatury nie pozostawia wątpliwości, że decyzja Doktoranta o kierunku prowadzonych badań jest w pełni uzasadniona zakresem obecnej wiedzy, zarówno z naukowego, jak i klinicznego punktu widzenia.

Cel rozprawy doktorskiej Pana lek. med. Bernarda Prudela został sformułowany szeroko i ambitnie, co potwierdza dojrzałość naukową Doktoranta. Głównym założeniem Doktoranta było przedstawienie zależności epidemiologicznych oraz ocena wybranych uwarunkowań genetycznych mogących odpowiadać za wzrost częstości występowania trigonocefalii w oparciu o materiał Kliniki Chirurgii Plastycznej w Polanicy Zdroju.

W Swojej dysertacji autor postawił sobie trzy cele szczegółowe:

1. Poszukiwanie mutacji w wybranych eksonach i intronach genów *FGFR1*, *FGFR2* i *FGFR3* oraz w części kodującej genu *SMAD6* u pacjentów z trigonocefalią
2. Analiza polimorfizmu rs1884302 zlokalizowanego w części intronowej na chromosomie 20p12.3
3. Ocena korelacji występowania mutacji punktowych w badanych genach z obecnością dodatkowych wad wrodzonych

W rozdziale Materiał autor dokładnie opisał kryteria włączenia pacjentów do swoich badań oraz przedstawił dokładną ocenę kliniczną pacjentów. Badaniami w ocenianej pracy została objęta grupa 30 pacjentów z trigonocefalią.

Odnosnie tego rozdziału, moim pytaniem do Doktoranta jest dlaczego wybrał do analizy naukowej akurat te wymienione w Metodach polimorfizmy w genach *FGFR1*, *FGFR2*, *FGFR3*, *SMAD6* oraz polimorfizm w regionie 20p12.3?

Z racji wykonywanego zawodu – jestem pediatrą i genetykiem klinicznym, muszę również zadać pytanie Doktorantowi, dlaczego tak mało dzieci (5 pacjentów) z kraniosynostozą, a szczególnie z dodatkowymi wadami, miało wykonaną konsultację genetyczną, jeżeli wiemy, że u 25% pacjentów występuje tzw kraniosynostoza zespołowa?

W kolejnym etapie rozdziału Metody Doktorant omówił szeroko i szczegółowo odczynniki używane do rozległych badań genetycznych oraz metody badawcze użyte w pracy począwszy od izolacji DNA, poprzez sekwencjonowanie metodą Sangera, skończywszy na analizie *in silico* zidentyfikowanych wariantów nukleotydowych.

Podsumowując te dwie części rozprawy: Materiał i Metody stwierdzam, iż jestem pod wrażeniem części zarówno klinicznej jak i molekularnej dysertacji i zastosowanych testów przez Pana lek. med. Bernarda Prudela do rozwiązania problemu badawczego. Ten rozdział rozprawy doktorskiej dowodzi jednoznacznie, że Pan lek. med. Bernard Prudel jest szeroko

wykształconym lekarzem o wyjątkowej umiejętności wykorzystania istniejących narzędzi badawczych w medycynie molekularnej dla rozwiązywania skomplikowanych i wielowątkowych problemów naukowych, jak również potrafiącym prowadzić analizę genotypowo-fenotypową, co jest niezmiernie ważną umiejętnością przy korzystaniu z nowoczesnych technik molekularnych.

Rozdział Wyniki jest dobrze napisanym tekstem, z logicznym układem. Z punktu widzenia genetyka klinicznego, pediatry, dysmorfologa, ten rozdział najbardziej pokazuje ogrom wykonanej pracy w ocenianej dysertacji. W rozdziale Wyniki Doktorant omówił szczegółowo wyniki epidemiologiczne, analizę badanych polimorfizmów oraz analizę porównawczą częstości występowania form polimorficznych badanych genów.

Rozdział Wyniki Doktorant urozmaicił i podsumował klarownymi rycinami i tabelami, w których zawarte są wszystkie stwierdzone zmiany molekularne wśród badanych pacjentów.

W tym rozdziale nie mam żadnych uwag, ani merytorycznych, jak i redakcyjnych.

Rozdział Dyskusja jest kwintesencją naukowej analizy, dokładnie i dobitnie tłumaczący uzyskane wyniki badań własnych. Przyznaję, że była to bardzo interesująca lektura, szczególnie, że omawiane problemy dotyczą chorób rzadkich. Najwięcej miejsca w Dyskusji Doktorant przeznaczył na omówienie wyników badań klinicznych i epidemiologicznych, które wskazują na wzrost częstości występowania trigonocefalii w ostatnich 30 latach oraz na znaczenie czynników środowiskowych w etiologii tych wad kości czaszki (jak na przykład palenie tytoniu, leki neurologiczne czy hormonalne).

W tej części dysertacji zwracam uwagę na używanie obcojęzycznych sformułowań medycznych zamiast polskich, jak scaphocefalia, zamiast łódkogłowie, czy nawet ujęta w tytule rozprawy doktorskiej trigonocefalia, zamiast trójkątnogłowie. To jest uwaga do przemyslenia. Bo jak pisał Mikołaj Rej – „*A niechaj narodowie wždy postronni znają, iż Polacy nie gęsi, iż swój język mają.*”

Ponadto muszę zaznaczyć, że wymieniona przez autora inwersja pericentryczna chromosomu 2 nie jest przyczyną wad rozwojowych oraz że wymieniona delecja obejmująca chromosom 22q11 ma nieprawidłowy zapis (22q11,11q23-q24) – proszę o wyjaśnienie.

Oceniając tą część rozprawy chciałbym podkreślić, że Doktorant wykazał się właściwą umiejętnością krytycznej analizy wyników badań własnych w odniesieniu do wyników z literatury światowej, ale również twórczym podejściem do zrozumienia mechanizmów patogenetycznych wad czaszki.

Całość postępowania badawczego pozwolił Doktorantowi na sformułowanie pięciu powściągliwych i realistycznych wniosków, które pokrywają się z omówionymi powyżej wynikami Jego badań. W toku przeprowadzonych badań, Doktorant zanotował, że w ostatnich 30 latach wzrosła dwukrotnie częstość występowania trigonocefalii. We wniosku numer 4 i 5 Doktorant podkreślił, że u chorych z trigonocefalią obserwuje się zwiększenie występowania zmian polimorficznych dla genów *FGFR1*, *FGFR2*, *FGFR3*, zarówno w sekwencjach intronowych jak i eksonowych, co może powodować różnice w poziomie ekspresji tych receptorów wpływając w ten sposób na zwiększona predyspozycję do wystąpienia trigonocefalii.

Uzyskane wyniki Doktorant omówił w odniesieniu do szerokiej, właściwie dobranej i aktualnej literatury dotyczącej sedna poruszanych zagadnień (79 pozycji, w znakomitej większości opublikowanych w ostatnich latach). Cytowane publikacje dowodzą znajomości przez Doktoranta literatury przedmiotu oraz umiejętności korzystania z licznych i różnorodnych źródeł wiedzy.

W podsumowaniu podkreślę, że uzyskane rezultaty mają znaczenie dla nauki i praktyki klinicznej, Doktorant poprawnie formułuje problemy i założenia badawcze, wykazuje trafność doboru metod i narzędzi badawczych, umiejętność ich zastosowania. Dysertacja Doktoranta cechuje się prawidłowym układem pracy i struktury podziału treści, ogólnie poprawnością formalno-językową. Znalazłem jedynie kilka błędów merytorycznych, czy redakcyjnych, co oczywiście nie umniejsza wartości naukowej tej pracy.

W mojego ocenie rozprawa doktorska lek. med. Bernarda Prudela spełnia wymogi, stawiane tego typu rozprawom i zwracam się do Rady Wydziału Lekarsko-Stomatologicznego Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu o dopuszczenie pan magister Bernarda Prudela do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Dr hab. Robert Śmigiel, prof. nadzw.

dr hab. Robert ŚMIGIEL, prof. nadzw.
specjalista pediatrii / pediatrii metabolicznej
specjalista neonatologii
specjalista genetyki klinicznej
6627862

