

Warszawa, 02.09.2020.

Dr hab. n. med. Joanna Wierzbowska
Profesor WIM
Klinika Okulistyki CSK MON
Wojskowy Instytut Medyczny w Warszawie

O C E N A

rozprawy doktorskiej lek. Martyny Tomczyk-Socha „Ekspresja wybranych mikroRNA w zespole pseudoeksfoliacji”.

Zespół pseudoeksfoliacji (PEX) czyli zespół rzekomego złuszczenia cechuje się odkładaniem charakterystycznego włókninkowego materiału w obrębie struktur przedniego odcinka oka, głównie na powierzchni soczewki i w obrębie tęczęwki oraz w różnych narządach, takich jak skóra, płuca, serce i wątroba. Zespół pseudoeksfoliacji ma związek z dysregulacją w procesie syntezy elastyny oraz związaną z nią przypuszczalnie nieprawidłową biomechaniką blaszki sitowej. Zaburzenia te leżą u podstaw zwiększonego ryzyka powstania jaskry wtórnej o agresywnym przebiegu w oczach z zespołem pseudozłuszczenia w następstwie stopniowej blokady odpływu cieczy wodnistej przez agregaty materiału włókninkowego w siateczce trabekulum, zwężenia kąta komory przedniej i zwiększonej wrażliwości nerwu wzrokowego na uszkodzenie. Zespół PEX najczęściej dotyczy osób powyżej 65 r.ż, może obejmować jedno lub dwoje oczu a ryzyko rozwoju jaskry wtórnej może sięgać nawet 40% w ciągu 10 lat.

Od wielu lat prowadzi się intensywne poszukiwania pierwotnego czynnika inicjującego zespół PEX i jaskrę pseudoeksfoliacyjną. U wielu osób z zespołem pseudoeksfoliacji i jaskry w przebiegu zespołu PEX stwierdza się mutację genu LOXL1; jednak mutację tę stwierdza się także u osób bez tego zespołu i bez jaskry pseudozłuszczeniowej. Dokładny mechanizm tłumaczący związek mutacji genu LOXL1 z zespołem pseudozłuszczenia nie jest więc znany, ponadto inne geny i białka związane z PEX dowodzą zmian genetycznych w wielu szlakach i wieloczynnikowej etiologii tego schorzenia.

Wyniki dotychczas przeprowadzonych badań molekularnych wskazują, że decydującą rolę w patogenezie zespołu PEX oraz powstawaniu neuropatii jaskrowej spełniają raczej

złożone interakcje między genami i/lub modyfikacja ekspresji genów przez endogenne regulatory i czynniki środowiskowe.

Przedstawiona przez lek. Martynę Tomczyk-Socha rozprawa naukowa na stopień doktora nauk medycznych pt. „Ekspresja wybranych mikroRNA w zespole pseudoeksfoliacji”, dotyczy analizy zmienności ekspresji wiodących endogennych regulatorów genów w zespole PEX, których rola w tej jednostce chorobowej nie była dotychczas zbadana.

Już na wstępie pragnę zatem podkreślić, że dysertacja lek. Martyny Tomczyk-Socha jest opracowaniem nowatorskim, ponadto analiza materiału badawczego została przeprowadzona w kierowanym przez Panią prof. dr hab. med. Martę Misiuk-Hojło, wiodącym ośrodku klinicznym, od lat zajmującym się badaniami w kierunku jaskry, jej wczesnej diagnostyki i wdrażającym najnowsze metody leczenia tej neuropatii.

Przedstawiona mi do recenzji dysertacja zawiera 117 stron druku. Praca zredagowana jest w układzie klasycznym, składa się z 11 rozdziałów oraz szeregu podrozdziałów. Materiał dokumentacyjny stanowią 24 ryciny i 16 tabel. Piśmiennictwo liczy 180 pozycji. Praca zawiera 2 załączniki: informację dla osób biorących w badaniu i formularz zgody pacjenta na poddanie się eksperymentowi medycznemu.

Wstępna częśći rozprawy to obszerna, zajmujące 25 stron maszynopisu wprowadzenie do tematu rozprawy, w którym doktorantka wyczerpująco omówiła epidemiologię i charakterystykę kliniczną zespołu pseudoeksfoliacji, zaćmę w przebiegu zespołu PEX, genetyczne i biochemiczne uwarunkowania tego zespołu oraz budowę, funkcję i znaczenie mikroRNA.

Założenia i cele pracy zostały jasno sformułowane. Celem głównym pracy była analiza zmienności ekspresji wybranych mikroRNA (miR) w zespole pseudoeksfoliacji, który następnie opisano za pomocą 6 celów szczegółowych. Obejmowały one: 1/ porównanie ekspresji miR-125b pomiędzy osobami z PEX a grupą kontrolną, z jaskrą pierwotną otwartego kąta i z jaskrą pseudoeksfoliacyjną, 2/ określenie wpływu wybranych czynników środowiskowych na ekspresję miR-125b, 3/ utworzenie profilów a następnie porównanie najczęściej występujących miR w zespole PEX, 4/ porównanie ekspresji miR, które inni badacze wyodrębnili jako istotne w zespole PEX, jaskrze i zaćmie z wynikami otrzymanymi podczas sekwencjonowania, 5/ próbę wyodrębnienia miR związanych z PEX, których ekspresja powinna być szczegółowo zbadana w dalszych badaniach oraz 6/ zbadanie korelacji poziomu ekspresji wybranych miR z wiekiem.

W badaniu wzięło udział 150 chorych z zaćmą, których przydzielono do jednej z 4 grup w zależności od współistnienia lub braku dodatkowych schorzeń okulistycznych: PEXg (z zespołem PEX) – 38 pacjentów, Jg (z jaskrą pierwotną otwartego kąta) – 27 pacjentów, PEXJg (z jaskrą i zespołem PEX) - 30 pacjentów i Kg (grupa kontrolna, bez jaskry i zespołu PEX) - 45 pacjentów.

Na kolejnych stronach rozdziału „Materiał i metody”, doktorantka wymieniła kryteria włączenia do i wyłączenia z badanych grup oraz zawarła opis procedur przeprowadzonych przed operacją zaćmy, pobieranie centralnego fragmentu przedniej torebki soczewki do badań i metodykę badań molekularnych - analizę ekspresji i sekwencjonowanie genów. Zdaniem recenzenta, w tej części dysertacji powinny być także wymienione: współbadacz i ośrodek, w którym zostały przeprowadzone omawiane badania molekularne. Na wyróżnienie zasługuje innowacyjny wybór przedniej torebki soczewki jako materiału do badań ekspresji miRNA w jaskrze, gdyż dotychczasowe analizy były przeprowadzane na innych materiałach biologicznych - krwi, cieczy wodnistej, rogowki, siateczce beleczkowania i ciele rzęskowym. Rozdział ten doktorantka zamyka opisem zastosowanych w pracy metod statystycznych. Wykorzystano uznane metody analizy statystycznej, pozwalające na wiarygodną ocenę uzyskanych wyników i formułowanie wniosków.

Wyniki własne autorka przedstawiła niezwykle rzetelnie i starannie w 13 tabelach i na 18 rycinach. Otrzymane wyniki mają duże znaczenie poznawcze. Badania lek. Martynty Tomczyk-Socha wykazały, że poziom ekspresji miRNA-125b był zwiększony dla każdej z badanych grup w porównaniu z grupą kontrolną a także dla grupy połączonej, składającej się z wszystkich pacjentów z zespołem PEX względem grupy kontrolnej. Analiza jakościowa ujawniła ponad 3-krotnie wyższe poziomy miRNA-125b w zespole PEX; niższy poziom ekspresji tych cząstek stwierdzono u palaczy tytoniu w porównaniu do osób niepalących. Analiza porównawcza utworzonych profilów najczęściej występujących miR u pacjentów z zespołem PEX i w grupie kontrolnej pozwoliła zidentyfikować 5 najliczniejszych miR, które stanowiły 90% wszystkich odczytów oraz wyróżnić 4 miR o statystycznie istotnej różnicy w ekspresji pomiędzy analizowanymi grupami. Autorka, badając ekspresję ponad stu microRNA, które inni badacze uznali za istotne w cieczy wodnistej, torebce soczewki i krwi, nie stwierdziła istotnych różnic w badaniu własnym; stężenie większości z molekuł tych pakietów była nieoznaczalna. Nie stwierdzono także korelacji pomiędzy ekspresją miR a wiekiem.

Dyskusję rozprawy doktorantka przeprowadziła na 22 stronach manuskryptu, którą podzieliła na 15 podrozdziałów. W jednym z pierwszych podrozdziałów Autorka odniosła się

do wybranego w badaniu własnym materiału biologicznego – nabłonka przedniej torebki soczewki do izolacji mikroRNA. Część zawartych na pierwszych stronach Dyskusji powinna, zdaniem recenzenta znaleźć się raczej we Wstępie dysertacji jako uzasadnienie wyboru tej właśnie tkanki do badań molekularnych nad patogenezą zespołu PEX. W kolejnych podrozdziałach części Dyskusja Doktorantka omówiła wpływ endogennych regulatorów na ekspresję białka p53 w torebce soczewki i krytycznie odniosła się do stosowanych różnych metod standaryzacji próbek w sekwencjonowaniu nowej generacji. W pięciu ostatnich podrozdziałach Dyskusji Autorka porównała otrzymane w badaniu własnym wyniki ekspresji miR z wcześniej opisanymi miR w zespole PEX, w których wykorzystano inne materiały biologiczne oraz wskazała nowe wyodrębnione cząstki jako kandydatów do dalszych badań molekularnych. Na uznanie zasługuje dojrzałość w prowadzeniu dyskusji przez doktorantkę i ostrożność w interpretowaniu wyników własnych z uwagi na nowatorską metodykę badania oraz niezbadane dotychczas korelacje między ekspresją miR w torebce i krwią oraz cieczą wodnistą.

Kolejny rozdział - Podsumowanie i wnioski stanowi dowód, że autorka w pełni zrealizowała zamierzenie badawcze postawione w celu pracy. Dodatkowo doktorantka zawarła w nim zwięzły ale precyzyjny i będący konsekwencją badań własnych, kierunek dalszych badań molekularnych nad patogenezą zespołu PEX.

Dysertacja zawiera streszczenia w języku polskim i angielskim. Rozprawę kończy rozdział Piśmiennictwo obejmujący 180 pozycji, w tym 3 publikacje i opracowania polskich autorów, które zostało dobrze dobrane pod kątem tematu pracy i wykorzystane w tekście rozprawy. Odsetek publikacji z ostatnich 10 lat wyniósł 44%.

Praca została napisana dobrym stylem i zawiera staranny materiał graficzny. Z obowiązku recenzenta wskazuję na brak pozycji piśmiennictwa przy nazwiskach pięciu autorów wymienionych w Dyskusji (na str. 66).

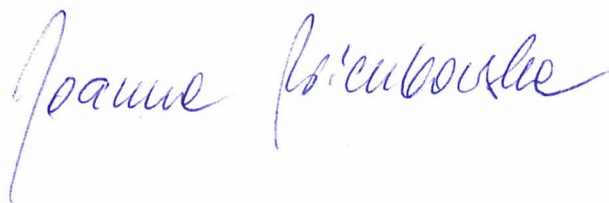
Przedstawioną mi do recenzji dysertację oceniam bardzo dobrze. Rozprawa doktorska lek. Martyny Tomczyk-Socha jest opracowaniem nowatorskim i stymulującym do dalszych badań. W pełni odpowiada na wytyczony cel pracy. Lekarka Martyna Tomczyk-Socha wykazała umiejętność zaplanowania badania, przedstawienia wyników i właściwej ich interpretacji w oparciu o znajomość piśmiennictwa oraz dużą wiedzę w zakresie tematu rozprawy.

Podsumowując, stwierdzam, że rozprawa naukowa na stopień doktora nauk medycznych lek. Martyny Tomczyk-Socha pt. „Ekspresja wybranych mikroRNA w zespole pseudoeksfoliacji” spełnia warunki określone w art. 13 ust. 1 ustawy z dnia 14 marca 2003 r.

o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. Nr 65, poz.595, z późn. zm.).

Mam zaszczyt przedstawić Radzie Wydziału Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu wniosek o dopuszczenie lek. Martyny Tomczyk-Socha do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

W związku z nowatorskim charakterem i wysoką wartością merytoryczną dysertacji wnoszę również o wyróżnienie rozprawy doktorskiej lek. Martyny Tomczyk-Socha.



dr hab. med. Joanna Wierzbowska, prof. WIM