

Poznań, 30 sierpnia 2016 r.

## **R E C E N Z J A**

**rozprawy doktorskiej lek. Piotra HARASYMCZUKA  
z Kliniki Chorób Kręgosłupa i Ortopedii Dziecięcej  
Uniwersytetu Medycznego im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu**

### **pt. Badanie powiązań polimorfizmów genu *TIMP2* z występowaniem i progresją skoliozy idiopatycznej u dziewcząt**

Patologie kręgosłupa obserwowane w wieku rozwojowym stanowią coraz poważniejszy problem cywilizacyjny. Z jednej strony sprzyja im siedzący tryb życia oraz ograniczenie aktywności ruchowej. Z drugiej, niezmiernie istotnym jest podłoże genetyczne pojawiających się zmian. Jedną z najczęstszych patologii kręgosłupa u dzieci jest skolioza idiopatyczna, co do której istnieją mocno podzielone opinie w zakresie prób definiowania genotypów odpowiedzialnych za pojawienie się zmian, czy też potęgowanie już istniejących nieprawidłowości. Należy w tym miejscu zauważyć, że wykorzystana w rozprawie doktorskiej genetyka populacyjna nie jest prostym narzędziem badawczym, które umożliwiłoby wyprowadzanie jednoznacznych wniosków z przeprowadzonych badań. Bardzo duże ograniczenia tej metody sprawiają, że do otrzymanych wyników należy podchodzić z dużą ostrożnością oraz dystansem. Uzyskane rezultaty mogą bowiem stanowić jedynie wskazówki co do pewnych populacyjnych trendów, które niekoniecznie mogą być poddane pozytywnej weryfikacji w innych modelach badawczych.

Biorąc pod uwagę powyższe, należy stwierdzić, że Doktorant podjął się bardzo trudnego zadania. Po pierwsze, dokonał ambitnego wyboru problematyki badawczej. Skolioza idiopatyczna jest, owszem, najczęstszą patologią kręgosłupa u dzieci, ale dotyka zaledwie 3% populacji. Zatem dobór jednorodnej grupy badanej nie jest łatwy. Po drugie, zastosowanie w naukach klinicznych metod analizy częstości występowania polimorfizmów pojedynczego nukleotydu (SNPs) stwarza konieczność bardzo wyważonej interpretacji uzyskanych danych. Zaprezentowane wyniki muszą być bowiem powiązane z obrazem klinicznym choroby i dać przynajmniej próbę odpowiedzi na to, czy otrzymane rezultaty mogą mieć znaczenie w praktyce. Po trzecie, wreszcie, Doktorant w swoim pracach badawczych wstępuje na niemalże dziewiczy teren. Liczba doniesień naukowych dotyczących podłoża genetycznego idiopatycznej skoliozy jest niewielka, a zaprezentowane w nich wyniki niejednokrotnie się wykluczają.

Rozprawa doktorska lek. Piotra Harasymczuka ma typowy układ dla tego rodzaju opracowań. Bardzo cennym dodatkiem jest podany we wstępie pracy, szczegółowo opracowany wykaz skrótów oraz, znajdujące się w końcowej części manuskryptu, zestawienia tabel i rycin. Praca jest napisana zwięzłym językiem. Z racji swojej interdyscyplinarności, jest kierowana do lekarzy ortopedów, pediatrów oraz biologów molekularnych. Na tym tle, zwięzłość języka jest, w moim odczuciu, pewnym ograniczeniem pracy. Sięgający w przyszłości po tę lekturę ortopedzi dziecięcy mogą być przytłoczeni mnogością i szczegółowością informacji z zakresu biologii molekularnej. Z drugiej strony, czytelnikowi spoza nauk klinicznych można byłoby zaprezentować chociażby przykładowe radiogramy obrazujące omawiane patologie kręgosłupa. Prezentacja wyników opiera się w pierwszym rzędzie na tabelach. Grafika ogranicza się zaledwie do trzech rycin, z których dwie pierwsze są stosunkowo luźno powiązane z podstawową tematyką pracy.

Podstawowy cel pracy oraz cele szczegółowe zostały przedstawione w sposób niezwykle konkretny. Zostały one poprzedzone krótko sformułowanymi założeniami badawczymi, które stanowią niejako końcowy wywód informacji podanych we wstępie do rozprawy. Wstęp, zajmujący pierwsze 12 stron dysertacji, stara się uzasadnić podjęcie tematyki badawczej, rozjaśnić zawłość skomplikowanych zasad genetyki populacyjnej, jak i doprowadzić czytelnika do pełnego zrozumienia faktu, dlaczego to gen *TIMP2* został wybrany do szczegółowej analizy. Wywód ten, nie jest jednak do końca jasny. Pojawiają się w nim informacje dotyczące podłoża genetycznego raka sutka czy też mukowiscydozy, które mogłyby się z powodzeniem znaleźć w omówieniu wyników i dyskusji. Taka konstrukcja wstępu niepotrzebnie zaciemnia podstawowe przesłanie pracy, jakie zostało przedstawione w jej tytule.

Syntetyczny opis celów rozprawy zapowiada dwutorowy plan prowadzenia prac badawczych. Z jednej strony zamierza się poznać częstość występowania polimorfizmów genu *TIMP2* w badanej populacji, z drugiej, Doktorant planuje ocenić/przybliżyć praktyczną przydatność wykonywania takich testów. Taki rodzaj naukowego podejścia w rozwiązywaniu problemów badawczych jest niezwykle cenny. Wskazuje bowiem na to, że Doktorant jest w pierwszym rzędzie lekarzem praktykiem, który zamierza wzbogacić arsenał dostępnych narzędzi diagnostyczne o nowe procedury. Zarówno ja (niżej podpisany), jak i Doktorant zdajemy sobie sprawę z faktu, że osiągnięcie takiego celu jest niezwykle odległe. Ale zaprezentowane i upowszechnione w rozprawie doktorskiej wyniki mogą stać się przyczynkiem do projektowania kolejnych prac rozwojowych.

Informacje zawarte w rozdziale dotyczącym metodyki świadczą nie tylko o bardzo dobrym przygotowaniu lek. Piotra Harasymczuka do prowadzenia tego rodzaju prac badawczych, ale wskazują również na interdyscyplinarny model rozwiązywania problemów klinicznych pojawiających się w ortopedii dziecięcej. Badania zrealizowano w oparciu o 200 osób przyporządkowanych do dwóch grup: niezwykle precyzyjnie dobranej grupy badawczej - liczącej 100 dziewcząt z idiopatyczną skoliozą, oraz kontrolnej obejmującej 100 zdrowych kobiet w wieku do 35 rż. Prezentacja grupy badanej jest wyczerpująca. W przypadku grupy kontrolnej przytoczono natomiast wyłącznie rekrutacyjne kryteria włączenia. Jednym z ww. kryteriów był wiek (< 35 rż). W badaniach o charakterze genetycznym wiek osoby, od której

uzyskano materiał, nie ma większego znaczenia. Chyba, że bierze się pod uwagę stan kliniczny i możliwość pojawiania się patologii kręgosłupa. Wówczas arbitralne określenie granicznego wieku jest istotne, a w opisie grupy powinno się podać chociażby podstawowe dane dotyczące rozpiętości oraz średniego wieku, masy ciała, czy też BMI.

Analiza statystyczna uzyskanych rezultatów została wykonana w sposób wyczerpujący z użyciem adekwatnych testów statystycznych.

Jak już wyżej wspomniano, prezentacja wyników w ocenianej przeze mnie dysertacji opiera się w pierwszym rzędzie o dane tabelaryczne. Zdaję sobie sprawę z faktu, że takie ujęcie rezultatów jest najprostsze, ale pewien niedosyt budzi chociażby brak dokumentacji radiologicznej, na podstawie której nieco mniej doświadczony czytelnik mógłby lepiej zrozumieć podstawy deformacji rotacyjnej tułowia czy też poznać zasady wyznaczania i obliczania kąta Cobba. Co więcej, wydaje się, że rozdział ten mógłby być uzupełniony o część dotyczącą ograniczeń płynących z pracy. Wydaje się, że, mimo 200-osobowej grupy, nadal jednym z nich może być stosunkowo niewielka liczba osób chorych i zdrowych, które zostały poddane analizom. Owszem, prawidłowa interpretacja wyników opartych o narzędzia genetyki populacyjnej rozpoczyna się od 100-osobowej grupy badanej i kontrolnej, ale zdarza się, że uzyskane wyniki nie znajdują swojego potwierdzenia w rezultatach innych zespołów badawczych. Najlepszym tego typu przykładem jest obserwacja własna Doktoranta, który nie potwierdził wcześniejszych spostrzeżeń dotyczących prognostycznego znaczenia polimorfizmu promotorowego rs8179090 w przebiegu klinicznym idiopatycznej skoliozy. Z drugiej strony, należy bezsprzecznie przyznać, że liczba dostępnych opracowań z tego obszaru jest nadal niewielka. Potwierdzeniem takiego stanu rzeczy są obiektywne trudności Doktoranta w szerokim skomentowaniu uzyskanych wyników w oparciu o wcześniejsze analizy. Wydaje się, że genetyka w ortopedii dopiero zaczyna stawiać swoje pierwsze kroki, a wszelkie tworzone współcześnie opracowania mają szanse stać się fundamentami prac projektowanych w przyszłości.

Zasadniczą część rozprawy kończą cztery wnioski w pełni odpowiadające na postawione pytania badawcze.

W uzupełnieniu manuskryptu podano 165 pozycji literaturowych, w ogromnej mierze z ostatniego dziesięciolecia, a także streszczenia w języku polskim i angielskim.

W oparciu o przedstawioną wyżej opinię należy stwierdzić, że lek. Piotr Harasymczuk udowodnił w ocenianej przez mnie rozprawie doktorskiej bardzo dużą znajomość opracowywanego tematu, swobodę w wykorzystywaniu narzędzi badawczych oraz zdolność do ostrożnego a zarazem prawidłowego wnioskowania. W pracy znalazło się kilka drobnych błędów redakcyjnych oraz interpunkcyjnych, które nie mają żadnego wpływu na jej wartość merytoryczną.

Podsumowując, uważam, że rozprawa doktorska lek. Piotra Harasymczuka jest niezwykle cennym, pionierskim opracowaniem podejmującym próbę przybliżenia tła genetycznego idiopatycznej skoliozy. Zagadnienie badawcze wpisuje się w profil wcześniejszej działalności naukowej jednostki, z której pochodzi Doktorant, oraz znajduje się w ścisłym kręgu

zainteresowań naukowych Promotora pracy - prof. dr. hab. n. med. Tomasza Kotwickiego. Przedstawione do oceny opracowanie w pełni odpowiada wymogom pracy na stopień doktora określonym w ustawie o stopniach i tytule naukowym.

Wnoszę zatem do Rady Wydziału Lekarskiego I Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu o dopuszczenie lek. Piotra Harasymczuka do dalszych etapów przewodu doktorskiego oraz, z uwagi na pionierski wymiar uzyskanych rezultatów, stosowne wyróżnienie pracy.

Michał Nowicki

Prof. dr hab. n. med. Michał Nowicki