



UNIwersytet  
Warszawski

Wydział Biologii  
Instytut Genetyki i Biotechnologii  
prof. dr hab. Katarzyna Tońska



Warszawa 4 maja 2021

**Recenzja rozprawy doktorskiej mgr Dominiki Oziębło pt.: „Analiza wpływu podłoża genetycznego na efekty implantowania w grupie dzieci z głębokim niedosłuchem prelingwalnym”.**

Niedosłuch jest stosunkowo częstą wadą wrodzoną, a zatem pojawiającą się zanim nastąpi rozwój mowy. Co za tym idzie ma ogromny wpływ nie tylko na sam rozwój komunikacji werbalnej dziecka, ale na całościowe jego funkcjonowanie w rodzinie, grupie rówieśniczej i wreszcie społeczeństwie. Polska może się pochwalić świetnymi wynikami terapii niedosłuchu poprzez wszczepienie implantu ślimakowego (za doktorantką, będę dalej stosować skrót CI) u dzieci ze znacznym lub głębokim niedosłuchem, co pozwala na prawidłowy rozwój mowy a co za tym idzie kompetencji społecznych.

Przyczyną niedosłuchu prelingwalnego mogą być wady genetyczne, ale też działające w ciąży czy okresie postnatalnym czynniki uszkodzające słuch. W wielu przypadkach nie udaje się ustalić przyczyny. Decyzja o wszczepieniu CI jest niejako niezależna od pierwotnej przyczyny niedosłuchu ciekawym jest zatem pytanie zadane przy doktorantkę, czyli – czy efekt działania IC może zależeć od konkretnego podłoża genetycznego niedosłuchu u dziecka?

Aby odpowiedzieć na to pytanie mgr Dominika Oziębło przeanalizowała dane kliniczne prawie 700 pacjentów implantowanych w dzieciństwie w Instytucie Fizjologii i Patologii Słuchu i spośród nich wybrała 200 osób, z czego u 149 przyczyną niedosłuchu były patogenne warianty w *locus* DFNB1, kolejnych 51 pacjentów zakwalifikowano do grupy non-DFNB1. Do grupy włączeni są zarówno pacjenci, u których badanie genetyczne zostało przeprowadzone wcześniej, w ramach rutynowej diagnostyki czy wcześniejszych projektów naukowych jak i osoby, u których to doktorantka była odpowiedzialna za przeprowadzenie analiz genetycznych zarówno w *locus*

ul. Pawińskiego 5A, 02-106 Warszawa  
tel.: 22 592 22 44, faks: 22 658 41 76  
e-mail: kaska@igib.uw.edu.pl  
<http://www.igib.uw.edu.pl>

DFNB1 jak i sekwencjonowania eksomu (grupa non- DFNB1). Biorąc pod uwagę dwa źródła wyników badania genetycznego pokazanie w tabeli, czy na schemacie dla ilu osób badania przeprowadzała doktorantka byłoby ułatwieniem.

Dużym walorem pracy jest właśnie przeprowadzenie badań genetycznych w grupie non-DFNB1 za pomocą sekwencjonowania eksomu i staranna analiza uzyskanych wyników wraz z ich potwierdzeniem innymi metodami (o ile to było konieczne), badaniami rodzinnymi oraz weryfikacją diagnozy klinicznej. Choć w skrócie brzmi to bardzo prosto, w rzeczywistości jest to ogrom pracy. Po samym sekwencjonowaniu eksomu i przeprowadzeniu kontroli jakości zwykle pozostają tysiące wariantów, a nawet po przefiltrowaniu ich pod kątem częstości czy wpływu na kodowane białko może pozostać do rozważenia więcej niż jeden kandydat. Doktorantka przeanalizowała dane nie tylko pod kątem wariantów punktowych, ale także zmienności liczby kopii (CNV). Obecność CNV u kilku osób potwierdziła innymi metodami (hybrydyzacja całogenomowa do mikromacierzy i qPCR). Następnie przeprowadziła analizę segregacji wariantów dla 37 rodzin, aby ustalić czy warianty zostały odziedziczone od rodzica/rodziców i czy wyniki są zgodne z proponowanym sposobem dziedziczenia choroby. W przypadku potencjalnych wariantów *de novo* potwierdziła także ojcostwo. Ostatecznie uznała, że udało jej się poznać prawdopodobną przyczynę niedosłuchu u 37 na 51 pacjentów co jest rewelacyjnym wynikiem biorąc pod uwagę, że była to grupa osób, u której już wcześniej wykluczono warianty patogenne w *locus* DFNB1. W kilkunastu rodzinach badanie genetyczne spowodowało weryfikację rozpoznania z niedosłuchu izolowanego na syndromiczny (w większości przypadków zespół Waardenburga). Na podstawie wyników badań genetycznych do niektórych analiz genetycznych grupę non-DFNB1 podzielono na dwie podgrupy – osób z ustaloną i nieustaloną genetyczną przyczyną niedosłuchu.

U wszystkich pacjentów wcześniej wszczepiono implant ślimakowy, a część pacjentów przedtem używała aparatów słuchowych, z różnym skutkiem. Kwestionariusz LEAQ mający charakter ankietowy wykorzystywano tuż po implantacji, a następnie w 5. i w 9. miesiącu po niej. Analiza kwestionariuszy pozwoliła na wyciągnięcie kilku bardzo istotnych wniosków – nie zaobserwowano różnic w rozwoju słuchowym dzieci z grupy DFNB1 i non-DFNB. Podobnie, w grupie non-DFNB1 nie zaobserwowano różnic pomiędzy pacjentami z ustaloną i nieznaną przyczyną niedosłuchu. W ciągu 9 miesięcy od implantacji pacjenci, u których zabieg przeprowadzono przed ukończeniem 1 r. ż. uzyskują wyniki bardziej zbliżone do wyników zdrowych rówieśników niż dzieci implantowane później. Bardzo ciekawą obserwacją jest różnorodność rozwoju słuchowego obserwowana u osób z wariantami patogennymi tego samego

geny, a nawet z tym samym wariantem genetycznym i jak słusznie zauważa doktorantka jest tutaj pole do poszukiwania innych czynników genetycznych lub środowiskowych mogących na niego wpływać.

Praca ma klasyczny układ i jest wzbogacona o wykaz skrótów, rycin i tabel, streszczenie w języku polskim i angielskim oraz materiały dodatkowe (umieszczenie w nich części materiałów czy wyników niektórych analiz uważam za bardzo dobre rozwiązanie). Czyta się ją jako całość bardzo dobrze mimo jej znacznej objętości. Nie mam uwag do wstępu, który świetnie i szeroko wprowadza w później zaprezentowane badania. Podobnie materiały i metody są dobrze opisane i pozwalają na odtworzenie przeprowadzonych badań. Mogą także służyć za poradnik w jaki sposób w kolejnych etapach analizować wyniki sekwencjonowania eksomu. O wynikach i ich znaczeniu pisałam już wyżej. Na chwilę chciałabym się jednak zatrzymać przy podrozdziale 4.8 „Ekspresja genów zaangażowanych w powstawanie HL”. W podrozdziale tym doktorantka analizuje literaturę pod kątem wzorów ekspresji genów powiązanych u badanych przez nią pacjentów z niedosłuchem. Wydaje mi się, że cała ta część powinna pojawić się dopiero w dyskusji (połączona z odpowiadającym jej fragmentem obecnie znajdującym się w dyskusji), trudno bowiem analizę literatury traktować jako niezależny wynik.

Bardzo wysoko oceniam dyskusję, którą trudno jest oczywiście oceniać samodzielnie nieuwzględniając uzyskanych wyników. Niniejsza praca jest najobszerniejszą w Polsce pracą nakierowaną na poznanie podłoża molekularnego niedosłuchu, jednocześnie charakteryzuje ją bardzo wysoki sukces diagnostyczny (o czym już wcześniej wspomniałam). Jak trafnie ocenia mgr Dominika Oziębło na sukces ten składają się restrykcyjne kryteria włączenia – znaczny lub głęboki niedosłuch, które jednocześnie są czynnikiem ograniczającym liczebność grupy badanej. W szerszym kontekście (jak to również słusznie zauważa doktorantka) na ograniczenie grupy pacjentów poddawanych tak szeroko zakrojonym badaniom genetycznym ma niestety koszt tych badań.

W przypadku wszystkich osób z grupy non- DFNB1 dla których udało się określić molekularną przyczynę choroby znaleziono patogenne warianty genetyczne w genach już wcześniej powiązanych z niedosłuchem. Nie mogło być inaczej skoro wyniki WES filtrowano właśnie pod tym kątem. Nasuwają się przy tym dwa pytania. Pierwsze - czy nie prościej było zastosować panel genów powiązanych z niedosłuchem, lub panel wszystkich genów dotychczas powiązanych z chorobami człowieka? I drugie – czy nie koczyło mgr Dominiki Oziębło, aby u 14 osób u których nie ustalono molekularnego podłoża choroby sięgnąć głębiej do wyników WES? Mogą tam się kryć

warianty genów dotychczas niepowiązanych z niedosłuchem. Bardzo chętnie poznam zdanie doktorantki na ten temat.

Mgr Dominika Oziębło bardzo rozsądnie odnosi się także do wyników analiz rozwoju słuchowego w grupach badanych pacjentów i porównuje je z wynikami uzyskiwanymi przez innych naukowców. Trafnie zauważa, że wyniki te niejednokrotnie są trudne do porównywania ze względu na między innymi różne kryteria włączenia do badań. Widzi też ograniczenia własnych analiz jak mała liczebność grupy non-DFNB1, która uniemożliwia sensowną analizę statystyczną (paradoksalna wada dużego sukcesu diagnostycznego) czy niedostatek kwestionariusza LEAQ, który opiera się na odpowiedziach opiekunów pacjenta, więc wyniki mogą być nieobiektywne mimo wcześniejszej walidacji. Wszystko to świadczy o dużej dojrzałości doktorantki.

Pracę kończą bardzo trafnie sformułowane wnioski, z których jednak usunęłabym wniosek 1 „Dostęp do bazy pacjentów będących pod opieką Zakładu Genetyki IFPS pozwolił na zgromadzenie dużych grup pacjentów (grupa DFNB1 – 149 osób, grupa non-DFNB1 – 51 osób), którzy spełniali restrykcyjne kryteria włączenia do badania”, bo trudno go nazwać wnioskiem.

Podsumowując, stwierdzam, że przedstawiona mi do recenzji praca mgr Dominiki Oziębło pt.: „Analiza wpływu podłoża genetycznego na efekty implantowania w grupie dzieci z głębokim niedosłuchem prelingwalnym” spełnia warunki określone w art.13 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.) w związku a art. 179 ust. 1 ustawy z dnia 3 lipca 2018r. Przepisy wprowadzające ustawę – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2018 r. poz. 1669 z późn. zm.) i może stanowić podstawę do nadania stopnia doktora. W związku z powyższym, zwracam się do Rady Dyscypliny Nauk Medycznych Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego o dopuszczenie Pani mgr Dominiki Oziębło do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Jednocześnie ze względu na bardzo wysoką wartość merytoryczną pracy, oraz znaczenie praktyczne uzyskanych wyników, z których część została już wcześniej opublikowana wnioskuję o jej wyróżnienie w przyjęty przez Radę sposób.

