

Recenzja rozprawy doktorskiej

mgr inż. Krzysztofa Żaka

Tytuł rozprawy:

Optymalizacja procesu identyfikacji genetycznej NN zwłok i szczątków ludzkich

Promotorzy:

- dr hab. n. med. Ireneusz Sołtyszewski
- dr n. med. Maria Szargut

Dyscyplina:

Nauki medyczne

Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska mgr inż. Krzysztofa Żaka poświęcona została zagadnieniu o dużym znaczeniu naukowym, praktycznym oraz społecznym. Problematyka identyfikacji genetycznej nieznanych zwłok i szczątków ludzkich należy do najtrudniejszych obszarów współczesnej medycyny sądowej i genetyki sądowej, zwłaszcza w przypadkach materiału silnie zdegradowanego, pochodzącego ze szczątków archiwalnych, przy jednoczesnym ograniczonym dostępie do krewnych bliskiego stopnia.

Autor podjął temat niezwykle aktualny, a zarazem wymagający zarówno bardzo dobrego przygotowania laboratoryjnego, jak i znajomości metod statystycznej interpretacji wyników badań DNA. Dodatkowego znaczenia rozprawie nadaje fakt, iż badania osadzono w kontekście historycznym ekshumacji ofiar represji stalinowskich z okresu Wielkiego Terroru w Adżarii (Gruzja) z lat 1937–1938. Tym samym praca wykracza poza wymiar czysto naukowy, obejmując również istotny aspekt humanitarny i społeczny.

Rozprawa posiada prawidłowy układ formalny. Obejmuje wstęp, cele pracy, materiał i metody, wyniki badań, dyskusję, wnioski oraz piśmiennictwo. Konstrukcja pracy jest logiczna, a tok wyводу przejrzysty. Autor konsekwentnie prowadzi czytelnika od przedstawienia problemu badawczego, poprzez zastosowane rozwiązania metodologiczne, aż do praktycznych wniosków wynikających z przeprowadzonych analiz.

Na szczególne podkreślenie zasługuje zakres materiału badawczego. Autor przeanalizował 28 szkieletów oraz materiał porównawczy pochodzący od 58 osób należących do 20 rodzin. Jest to materiał trudny, wymagający zarówno odpowiedniego przygotowania laboratoryjnego, jak i umiejętnego planowania badań.

Największą wartością rozprawy jest opracowanie oraz praktyczna weryfikacja wieloetapowego modelu identyfikacyjnego, integrującego różne klasy markerów genetycznych oraz kilka niezależnych narzędzi obliczeniowych. Autor wykorzystał panele autosomalnych STR, markery Y-STR, rozszerzony panel KinFinder przeznaczony do analiz dalszego pokrewieństwa, a także panel SNP. Takie podejście należy ocenić bardzo wysoko, ponieważ odpowiada ono rzeczywistym potrzebom współczesnej praktyki identyfikacyjnej, gdzie pojedyncza metoda często okazuje się niewystarczająca.

Wysoko oceniam również zastosowanie kilku systemów biostatystycznych służących do interpretacji pokrewieństwa. W sprawach, w których badaniu podlegają krewni dalszego stopnia, właściwa analiza statystyczna ma znaczenie podstawowe. Autor wykazał dobrą znajomość tej problematyki oraz umiejętność praktycznego wykorzystania dostępnych narzędzi.

Za istotne osiągnięcie należy uznać uzyskanie jednoznacznych identyfikacji genetycznych dla wszystkich rodzin poszukujących krewnych znajdujących się na analizowanej liście egzekucyjnej. Wynik ten świadczy zarówno o trafnym doborze metod, jak i o prawidłowej interpretacji danych.

Cenne są również obserwacje dotyczące przydatności określonych elementów kostnych jako źródła DNA. Potwierdzenie wysokiej wartości diagnostycznej części skalistej kości skroniowej ma znaczenie praktyczne i znajduje zastosowanie w przyszłych badaniach materiału historycznego oraz sądowego.

Na uznanie zasługuje także fakt, że autor nie ograniczył się wyłącznie do analiz laboratoryjnych, lecz wykorzystał dane genealogiczne oraz rekonstrukcję struktur rodzinnych. Pozwoliło to skorygować niektóre błędne informacje przekazywane przez członków rodzin i uniknąć wyników fałszywie negatywnych.

Rozprawa nie jest jednak wolna od pewnych uchybień, które należy wskazać.

Doprecyzowanie redakcyjne dotyczące liczby rodzin

W streszczeniu warto byłoby wyraźnie zaznaczyć, że spośród 20 rodzin objętych badaniem trzy dotyczyły osób spoza analizowanej listy egzekucyjnej, dlatego identyfikacje odnosiły się do 17 rodzin odpowiadających przyjętej hipotezie badawczej.

Skróty i terminologia

W streszczeniu pojawiają się skróty specjalistyczne (m.in. NN, STR, Y-STR, SNP, iiSNP, NGS, IBD, LR) bez rozwinięcia przy pierwszym użyciu. Warto ujednolicić tę kwestię redakcyjnie.

Dobór baz populacyjnych

Najistotniejsze zastrzeżenia metodologiczne dotyczą panelu KinFinder. Dla komercyjnych systemów (GlobalFiler™, Yfiler™ Plus) istnieją szeroko dostępne bazy referencyjne (STRidER, YHRD), natomiast dla KinFinder zabrakło pełniejszej charakterystyki populacji użytej do estymacji częstości alleli, w tym: liczebności próby, testów Hardy'ego-Weinberga, parametrów heterozygotyczności, porównania z populacją gruzińską.

Ponieważ panel ten służył analizom dalszego pokrewieństwa, ma to znaczenie szczególne.

Brak porównania z innymi panelami komercyjnymi

Pewnym niedosytem pozostaje brak porównania z innymi szeroko stosowanymi zestawami, zwłaszcza: PowerPlex Fusion 6C (Promega), Investigator 24plex QS (Qiagen).

GlobalFiler™ oraz Fusion 6C są obecnie jednymi z najczęściej alternatywnie stosowanych paneli w laboratoriach genetyki sądowej, a w sprawach trudnych mogą się wzajemnie uzupełniać. Fusion 6C zawiera dodatkowe loci: Penta D, Penta E, DYS570, DYS576.

Zwłaszcza Penta D i Penta E mogą zwiększać moc dowodową przy dalszym pokrewieństwie i niepełnych profilach DNA.

Ograniczenia techniczne metod

Autor rzetelnie wskazał również, że: KinFinder jest bardziej podatny na drop-out w materiale niskokopijnym niż standardowe zestawy komercyjne, niektóre programy (KinBN, pedbuildr) wymagają pełnych danych dla wszystkich osób, co przy niepełnych profilach wymusza redukcję liczby markerów.

Uwagi powyższe nie zmieniają jednak jednoznacznie wysokiej oceny rozprawy. Mają one charakter uzupełniający i w żadnym stopniu nie podważają wartości przedstawionych wyników.

Piśmiennictwo zostało dobrane właściwie i obejmuje zarówno klasyczne pozycje z zakresu genetyki sądowej, jak i publikacje aktualne. Autor swobodnie porusza się w literaturze przedmiotu, co znajduje odzwierciedlenie w dojrzałej dyskusji wyników.

W mojej ocenie mgr inż. Krzysztof Żak wykazał się bardzo dobrym przygotowaniem teoretycznym, biegłością warsztatową oraz umiejętnością samodzielnego rozwiązywania złożonych problemów badawczych. Przedłożona rozprawa stanowi wartościowe, oryginalne i dojrzałe opracowanie naukowe, wnoszące istotny wkład do rozwoju genetyki sądowej.

Rozprawa wykracza poza ramy czysto technicznej nauki. Identyfikacja ofiar umożliwia rodzinom: zakończenie wieloletniej niepewności, godny pochówek bliskich, przywrócenie pamięci historycznej.

Autor słusznie podkreśla także konieczność minimalizacji destrukcyjności pobierania próbek kostnych oraz etycznego podejścia do badań szczątków ludzkich.

Wniosek końcowy

Stwierdzam, że rozprawa doktorska mgr inż. Krzysztofa Żaka pt. „**Optymalizacja procesu identyfikacji genetycznej NN zwłok i szczątków ludzkich**” spełnia wymagania stawiane rozprawom doktorskim określone w obowiązujących przepisach prawa.

Wnoszę o dopuszczenie Doktoranta do dalszych etapów postępowania doktorskiego.

Jednocześnie, mając na uwadze wysoki poziom merytoryczny pracy, jej walor aplikacyjny, znaczenie społeczne oraz samodzielność badawczą autora, wnoszę o **wyróżnienie rozprawy**, o ile przewidują to obowiązujące regulacje jednostki prowadzącej postępowanie.

Ocena końcowa: pozytywna, z wnioskiem o wyróżnienie.