



OCENA

**Rozprawy mgr Macieja Jankowskiego
na stopień doktora nauk medycznych i nauk o zdrowiu
w dyscyplinie nauki medyczne**

**pt. „Ocena efektu założyciela na przykładach
dziedzicznych chorób nerek w wybranych populacjach”**

Promotor: **Prof. dr hab. n. med. Beata S. Lipska-Ziętkiewicz**

Promotor pomocniczy: **dr n. med. Patrycja Dąca-Roszak**

Rozprawa doktorska powstała we współpracy z Katedrą i Kliniką Pediatrii, Nefrologii i Nadciśnienia Tętniczego Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego (GUM), jak i pozostałymi ośrodkami nefrologii dziecięcej w Polsce (materiał kliniczny i biologiczny). Prace laboratoryjne oraz analityczne zostały wykonane przez Doktoranta w Katedrze i Zakładzie Biologii i Genetyki Medycznej GUM we współpracy z Zakładem Genetyki Molekularnej i Klinicznej Instytutu Genetyki Człowieka w Poznaniu.

Rozprawa została przygotowana w ramach realizacji dwóch projektów badawczych finansowanych przez Narodowe Centrum Nauki: (1) 2017/25/B/NZ2/00519 (kierownik prof. Beata Lipska-Ziętkiewicz) i (2) 2017/25/N/NZ5/00466 (kierownik: lek. Olga Małgorzata Bielska) oraz stypendium projakościowego Rektora GUM i stypendium doktoranckiego Młody Twórca Nauki (program POWER 3.5) (kierownik: mgr Maciej Jankowski).

Przedłożona do oceny rozprawa stanowi cykl czterech artykułów, w tym trzech oryginalnych prac badawczych (#1, #2 i #4) oraz jednej pracy przeglądowej (#3) opublikowanych w indeksowanych czasopismach:

- #1. Żurowska AM, Bielska O, Dąca-Roszak P, **Jankowski M**, (...), Lipska-Ziętkiewicz BS.
Mild X-linked Alport syndrome due to the COL4A5 G624D variant originating in the Middle Ages is predominant in Central/East Europe and causes kidney failure in midlife.
Kidney Int. **2021**; 99(6):1451-1458. **IF 18.998**; punktacja ministerstwa **140**
- #2. Drovandi S, Lipska-Ziętkiewicz BS, (...), **Jankowski M**, (...), Schaefer F.
Variation of the clinical spectrum and genotype-phenotype associations in Coenzyme Q10 deficiency associated glomerulopathy.
Kidney Int. **2022**; 102(3):592-603. **IF 19.600**; punktacja ministerstwa **140**
- #3. **Jankowski M**, Dąca-Roszak P, Obracht-Prondzyński C, Płoski R, Lipska-Ziętkiewicz BS, Ziętkiewicz E.
Genetic diversity in Kashubs: the regional increase in the frequency of several disease-causing variants.
J Appl Genet. **2022**; 63(4):691-701. **IF 2.400**; punktacja ministerstwa **140**
- #4. **Jankowski M**, Dąca-Roszak P, Bałasz-Chmielewska I, Ustaszewski A, Żurowska A, and Lipska-Ziętkiewicz BS, Ziętkiewicz E.
Estimation of the age of the Kashubian-specific pathogenic NPHS2 variant responsible for hereditary steroid-resistant nephrotic syndrome points to its recent local origin.
Hum Mutat. **2024**:8205102. doi: 10.1155/2024/8205102. **IF 3.300**; punktacja ministerstwa **140**

Przedłożona do oceny rozprawa doktorska dotyczy obszaru genetyki populacyjnej, której początki są określane na przełom lat dwudziestych i trzydziestych XX wieku, a obserwowany od kilku dekad znaczący jej rozwój w dużym stopniu zawdzięczamy wprowadzaniu coraz bardziej precyzyjnych i wydajnych metod genetyki molekularnej, które ułatwiają badanie historii populacji i gatunków na podstawie zmienności genetycznej zapisanej w sekwencji DNA. Jednym z mechanizmów ewolucji jest dryf genetyczny, wpływający na losowe zmiany w częstości występowania określonych alleli (tj. ich utraty lub utrwalenia) w kolejnych pokoleniach, niezależnie czy są to allele neutralne, czy warianty patogenne powodujące choroby dziedziczne. W małej, zamkniętej/ izolowanej geograficznie lub kulturowo populacji dryf genetyczny może prowadzić istotnych różnic rozkładu częstości alleli w porównaniu do populacji macierzystej. Zwiększenie częstości występowania wariantu patogenicznego w takiej populacji prowadzi do dominacji wariantu założycielskiego (wcześniej określanego jako mutacja założycielska).

Warto podkreślić, że badania poświęcone poszukiwaniu wariantów założycielskich mają szczególne znaczenie w diagnostyce chorób rzadkich, tym m.in. na opracowanie programów badań przesiewowych u noworodków, które umożliwiają bardzo wczesne wykrycie choroby i wdrożenie odpowiedniej profilaktyki polegającej np. na eliminacji toksycznych metabolitów lub substytucji brakujących składników, co przekłada się na poprawę jakości życia tych chorych.

Z tej perspektywy zaproponowany przez Autora temat rozprawy doktorskiej znakomicie wpisuje się także w założenia pierwszego Planu dla Chorób Rzadkich w Polsce, który aktualnie jest w procesie wdrażania realizacji działań zaplanowanych w tym obszarze.

Rozprawa doktorska została starannie przygotowana redakcyjnie i przekazana do oceny w formie opracowanej monografii, składającej się z 12 rozdziałów wymienionych w spisie treści zawierającym: **wykaz cyklu publikacji będących podstawą rozprawy**, wykaz stosowanych skrótów, streszczenie w języku polskim i angielskim, **wprowadzenie, cele pracy, omówienie publikacji wchodzących w skład rozprawy doktorskiej, podsumowanie**, pozostałe osiągnięcia doktoranta, piśmiennictwo (39 pozycji ułożonych w kolejności pojawiania się w tekście). Kopie publikacji wchodzących w skład rozprawy doktorskiej oraz oświadczenia współautorów zamieszczone są na końcu..

W rozdziale **Wprowadzenie** Doktorant w sposób przystępny nakreślił zagadnienia związane z genetyką populacyjną i przedstawił na czym polega efekt założyciela ilustrując opis czytelną ryciną #1 oraz podał kilka przykładów patogennych wariantów założycielskich w wybranych (różnych) populacjach, z podaniem szacowanego wieku ich pojawienia się (tabela #1). Krótko i przejrzyście przedstawił metody badania wieku wariantów założycielskich polegające na analizie zmieniającej się w czasie długości tego haplotypu w odniesieniu do haplotypu stanowiącego tło, który ma stałą długość w populacji ogólnej. Autor uzasadnił, że do przeprowadzenia analizy zmian długości haplotypu stanowiącego tło badanego wariantu najlepiej nadają się warianty polimorfizmu pojedynczego nukleotydu (SNP, ang. *single nucleotide polymorphism*) i opisał wybrane metody genotypowania SNP (nisko- i wysokoprzepustowego); ich zalety i wady przedstawione zostały czytelnie w tabeli #2.

Wybór odpowiedniej metody uzależniony był m.in. od liczebności badanej grupy oraz liczby wariantów SNP. Doktorant omówił i uzasadnił wybór metody dla każdej z trzech oryginalnych publikacji (#1, #2 i #4) potwierdzając jednocześnie swoje kompetencje naukowe i doświadczenie jako diagnosty laboratoryjnego. Dalej Autor szczegółowo omówił metody szacowania wieku wariantu założycielskiego, które zastosował w publikacji #1 (Żurowska i wsp., 2021) oraz w publikacji #4 (Jankowski i wsp., 20214).

Celem pracy była charakterystyka efektu założyciela w wybranych dziedzicznych chorobach nerek, która była realizowana w trzech celach szczegółowych:

1. Analiza tła haplotypowego wariantu c.1871G>A w genie *COL4A5* związanego z patogenezą zespołu Alporta – analiza wieku patogenicznego wariantu założycielskiego w populacji (zachodnio)słowiańskiej (praca #1, Żurowska i wsp., 2021).

2. Analiza tła haplotypowego wariantu c.1032delT w genie *NPHS2* związanego z patogenezą steroidoopornego zespołu nerczycowego – analiza wieku patogenicznego wariantu założycielskiego w populacji kaszubskiej. (praca #3, Jankowski i wsp., 2022 oraz praca #4, Jankowski i wsp., 2024)

3. Ocena rozkładu geograficznego i etnicznego poszczególnych wariantów patogennych w genach kodujących białka szlaku syntezy CoQ10 w populacji pacjentów ze steroidoopornym zespołem nerczycowym. (praca #2, Drovandi i wsp., 2022).

Wartość naukowa i praktyczna przeprowadzonych badań i analiz

W publikacji #1 przedstawione zostały wyniki analizy profilu genetycznego polskich pacjentów z zespołem Alporta (ang. *Alport syndrome*; AS, ORPHA:63). Udział w badaniach wzięło 269 dzieci z 13 ośrodków nefrologii dziecięcej z całej Polski, u których Doktorant wyizolował materiał genetyczny (DNA) i przygotował do genotypowania. Wykonał analizy metodą NGS, MLPA oraz sekwencjonowanie metodą Sanger'a i przeprowadził interpretację danych. Ustalił, że wariant NM_033380.3:c.1871G>A p.Gly624Asp (G624D) w genie *COL4A5* występował u 39% pacjentów z podtypem AS sprzężonym z chromosomem X, tj. istotnie częściej niż inne warianty patogenne, wskazując na potencjalny efekt założyciela, co zostało ostatecznie potwierdzone, oszacowane i sformułowane we wniosku nr 1.

W publikacji #2 przedstawione zostały wyniki analizy profilu genetycznego pacjentów z zespołem nerczycowym wynikającym z defektu genów biorących udział w biosyntezie szlaku CoQ10 (m.in. *COQ2*, *COQ6* i *COQ8B*) (ORPHA:35656). Badaniami objęto chorych zrekrutowanych m.in. z trzech rejestrów międzynarodowych oraz innych źródeł. W analizie uwzględniono wyłącznie zmiany w DNA, które według kryteriów ACMG zostały ocenione jako patogenne i zostały ponownie zweryfikowane przez genetyka klinicznego. Doktorant był odpowiedzialny za zbudowanie bazy wariantów niezbędnej do analizy korelacji genotyp-fenotyp, w której uwzględniono ostatecznie 95 wariantów trzech ww. genów. Następnie przeprowadził analizę wewnątrzgenowego rozkładu poszczególnych wariantów uwzględniającą organizację domen na poziomie białka (Fig. 5a-c) oraz analizę występowania wytypowanych wariantów patogennych (potencjalnie założycielskich) w różnych regionach geograficznych i grupach etnicznych (Fig. 5d).

W kolejnym punkcie Doktorant omówił dwie **prace, #3 i #4**, odpowiednio z roku 2022 (przeglądowa) i 2024 (oryginalna praca badawcza), których jest pierwszym autorem. W **pracy #3** przedstawił i omówił wyniki wcześniejszej analizy efektu założyciela przeprowadzonej w populacji kaszubskiej w kontekście patogennego wariantu c.1032delT w genie *NPHS2* (rok 2013), odpowiadającego za defekt podocyny leżący u podłoża zespołu nerczycowego odpornego na sterydy (ang. *steroid-resistant nephrotic syndrome*, SNRS; ORPHA:656), dziedziczącego się w sposób autosomalny recesywny. Wariant ten występuje istotnie częściej w powiatach kaszubskich regionu Pomorza. W **pracy #4** przeprowadzona została kompleksowa analiza tła haplotypowego w ośmiu kaszubskich rodzinach z SRNS, w których wykryto wcześniej wariant c.1032delT w genie *NPHS2*. Równoległe współwystępowanie wariantu c.686G>A umożliwiło kompleksową analizę haplotypu obu wariantów, która potwierdziła założycielski charakter wariantu c.1032delT w populacji kaszubskiej. Analiza wieku tego wariantu pozwoliła na oszacowanie wieku mutacji na ok. 240 lat. Ponadto, analiza tła haplotypowego dla wariantu c.686G>A zaliczanego do czynników ryzyka wystąpienia SRNS wykazała, że pojawił się on ok. 3 tys. lat temu i występuje powszechnie w Europie i Afryce Płn. u ok. 3,5% populacji. W obu publikacjach (#3 i #4) Doktorant brał udział w opracowaniu koncepcji i planu pracy, opracował tabele i ryciny oraz napisał oryginalną wersję manuskryptu. Ponadto, w przypadku pracy #4 odpowiadał za izolację materiału genetycznego (DNA) i przygotowanie do genotypowania oraz brał udział w analizie danych z genotypowania w oparciu o mikromacierze SNP.

Ocena realizacji założonego celu i sformułowanych wniosków

Założony cel główny oraz cele szczegółowe zostały w pełni zrealizowane. Na podstawie przeprowadzonych analiz opisanych w niniejszej rozprawie Autor sformułował następujące wnioski, które są adekwatne uzyskanych wyników:

1. Osoby posiadające wariant patogenny c.1871G>A w genie *COL4A5* – zarówno pochodzenia polskiego, jak i greckiego posiadają wspólne tło haplotypowe, co wskazuje na pochodzenie wariantu od wspólnego przodka; szacunkowy czas jego pojawienia się w populacji to ok. 700-800 lat temu (praca #1);
2. Osoby posiadające wariant patogenny c.1032delT w genie *NPHS2* posiadają wspólne tło haplotypowe, co potwierdza założycielski charakter wariantu; szacunkowy wiek jego pojawienia się u Kaszubów to ok. 240 lat (praca #4);
3. Ocena rozkładu geograficznego i etnicznego poszczególnych wariantów patogennych w genach kodujących białka szlaku syntezy CoQ10 w populacji pacjentów ze steroidoopornym zespołem nerczycowym wykazała istnienie geograficznego zróżnicowania w występowaniu poszczególnych wariantów, co może sugerować ich założycielski charakter (praca #2).

Redakcja przedłożonej pracy (uwagi recenzenta)

Oceniana praca doktorska została bardzo starannie przygotowana, zgodnie z wymogami dokumentacji naukowo-badawczej. Praca została napisana poprawną polszczyzną, co ułatwia czytanie i zrozumienie tekstu.

Nie mam zastrzeżeń merytorycznych do recenzowanej rozprawy doktorskiej. a jedynie drobne uwagi o charakterze redakcyjnym, do ew. korekty, które nie mają wpływu na bardzo wysoką ocenę całości rozprawy.

Ad. V. Wprowadzenie. Uwaga dotyczy str. 15 i 16: dla jednostek policzalnych używany jest terminu „liczba”, nie „ilość” – dotyczy stron: 15. „ilość alleli”, 16. „ilość wariantów”.

Podsumowanie

Zaproponowany cykl czterech prac pt. „Ocena efektu założyciela na przykładach dziedzicznych chorób nerek w wybranych populacjach” stanowi spójną tematycznie całość jako podstawa rozprawy doktorskiej mgr Macieja Jankowskiego. Wszystkie publikacje ukazały się w recenzowanych międzynarodowych czasopismach. Łączna wartość wskaźnika oddziaływania IF wynosi 44,298, punktacji MNiSW/MEiN 560 pkt. Znaczący udział Doktoranta w każdej z prac został potwierdzony w oświadczeniach Autora i współautorów.

Warto dodać, że mgr Maciej Jankowski jest także współautorem trzech innych publikacji o łącznym wskaźniku IF 23,100 oraz MNiSW/MEiN 420 pkt.

Rozprawa doktorska mgr Macieja Jankowskiego dostarczyła szeregu cennych informacji na temat:

- genetycznych przyczyn chorób nerek w wybranych populacjach, z podkreśleniem znaczenia badań dotyczących populacji polskiej (zespół Alporta) i populacji kaszubskiej (zespół nerczycowy oporny na sterydy),
- charakterystyki profilu genetycznego badanych populacji, w tym rozkładu geograficznego i etnicznego wariantów patogennych stanowi cenne źródło interdyscyplinarnych informacji dających szerokie możliwości ich wykorzystania, w dziedzinie medycyny i zdrowia publicznego, m.in. takich jak: planowanie strategii przesiewowych badań genetycznych, z uwzględnieniem specyfiki regionalnej (patogenne warianty założycielskie), opracowanie szybkich algorytmów diagnostycznych, czy poszukiwanie nowych leków w chorobach rzadkich.

Osiągnięcie naukowe mgr Macieja Jankowskiego doskonale wpisuje się w założenia pierwszego w Polsce Planu dla Chorób Rzadkich, który jest obecnie w fazie wdrażania realizacji zaplanowanych działań w tym obszarze wspierających szybką diagnostykę tych chorób (genetyczną i niegenetyczną) i zapewnienie pacjentom odpowiedniej opieki i jakości życia.

WNIOSKI KOŃCOWE

Biorąc pod uwagę aspekt naukowy pracy, w tym wartość merytoryczną i praktyczną wyników **oceniam pracę jako spełniającą wszystkie kryteria stawiane rozprawom na stopień doktora nauk medycznych** określone w Ustawie Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce z dn. 20 lipca 2018 r. (Dz.U. z 2023 r. poz. 742 z późn. zm.).

Na tej podstawie **zwracam się do Rady Nauk Medycznych Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego z wnioskiem o dopuszczenie mgr Macieja Jankowskiego do dalszych etapów przewodu doktorskiego.**


Prof. dr hab. n. med. Krystyna H. Chrzanowska

Warszawa, 1 września 2025 r.