



Dr hab. med. Aneta Słabuszewska-Jóźwiak prof. CMKP

Warszawa, dnia 11.06.2023 r.

I Klinika Położnictwa i Ginekologii

Centrum Medycznego Kształcenia Podyplomowego

w Warszawie

Recenzja rozprawy doktorskiej

Magister Patrycji Juchniewicz

pt. „Inaktywacja chromosomu X w zaburzeniach metabolizmu i u osób zdrowych”

Genomowy imprinting, jest szczególnym mechanizmem epigenetycznym wpływającym na regulację ekspresji genów. Zjawisko to polega na różnym znakowaniu genów poprzez ich metylację w gametach rodzicielskich, co w konsekwencji powoduje, że geny napiętnowane są nieaktywne lub ich ekspresja zostaje zmieniona. Tylko jeden gen z pary alleli, matczynej lub ojcowskiej, pozostaje aktywny. Ponownie zmiany we wzorze metylacji, zachodzą dopiero na poszczególnych etapach embriogenezy. Dopiero po implantacji zarodka niezmetylowane allele genów z piętnem genomowym ulegają *de novo* metylacji. Dalszy okres poimplantacyjny zarodka wiąże się z jego intensywnym wzrostem i rozwojem co jest ściśle związane jest z selektywną remetylacją kluczowych genów obu linii komórkowych zarówno embrionalnej jak i poza embrionalnej. Inaktywacja chromosomu X (XCI, ang. *X-chromosome inactivation*) jest procesem epigenetycznym polegającym na transkrypcyjnym wyciszeniu jednego z dwóch chromosomów X u kobiet podczas wczesnej embriogenezy. Dzięki temu zjawisku możliwa jest zrównoważona ekspresja genów zlokalizowanych w chromosomie X u kobiet (XX) i u mężczyzn (XY).

Praca magister Patrycji Juchniewicz na stopień doktora w dziedzinie nauk ścisłych i



przyrodniczych w dyscyplinie nauki biologiczne została wykonana pod kierunkiem dr hab. Joanny Jakóbkiewicz-Boneckiej z Katedry Biologii i Genetyki Medycznej Uniwersytetu Gdańskiego oraz dr Ewy Piotrowskiej z Katedry Biologii Molekularnej pełniącej rolę promotora pomocniczego. Rozprawę przygotowano zgodnie z wymogami ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz stopniach i tytule w zakresie sztuki, jak również rozporządzenia Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z dnia 19 stycznia 2018 r. w sprawie szczegółowego trybu i warunków przeprowadzenia czynności w przewodzie doktorskim, w postępowaniu habilitacyjnym oraz w postępowaniu o nadanie tytułu profesora.

Przedłożona do oceny praca pt. „Inaktywacja chromosomu X w zaburzeniach metabolizmu i u osób zdrowych” składa się ze spójnego tematycznie cyklu 3 prac (dwóch oryginalnych i jednej poglądowej) dotyczących inaktywacji chromosomu X w ogólnej populacji kobiet jak i u heterozygotycznych kobiet z rodzinną historią choroby Fabry’ego. Wszystkie artykuły zostały opublikowane w prestiżowych, międzynarodowych czasopismach z listy Journal Citation Reports o łącznej wartości IF 13,466 i 310 punktów MEiN. W przedstawionych publikacjach Doktorantka jest pierwszym autorem uczestniczącym w każdym etapie przygotowania artykułów począwszy od stwarzania koncepcji w przypadku pracy poglądowej poprzez pobieranie materiału biologicznego, analizę i interpretację wyników w przypadku prac oryginalnych i przygotowanie wszystkich manuskryptów do druku.

Przedstawiona monografia zawarta jest na 20 stronach maszynopisu, posiada wszystkie zwyczajowo uwzględniane elementy strukturalne: streszczenie, streszczenie w języku angielskim (abstrakt), wprowadzenie, które zawiera wstęp, cele i metodykę pracy, omówienie publikacji będących przedmiotem rozprawy doktorskiej, wnioski i bibliografię. Uzupełnieniem całości stanowi dołączony wykaz artykułów będących przedmiotem rozprawy doktorskiej wraz z oświadczeniami współautorów.



Niniejsza rozprawa doktorska przedstawia analizę zjawiska inaktywacji chromosomu X zarówno u osób zdrowych, jak i u kobiet będących nosicielkami mutacji w genach sprzężonych z chromosomem X, których defekty powodują zaburzenia metaboliczne.

W artykule pt. "X-chromosome inactivation patterns depend on age and tissue but not conception method in humans" przeprowadzono analizę wzoru inaktywacji chromosomu X w różnych tkankach, takich jak krew obwodowa, skóra i komórki nabłonkowe jamy ustnej pochodzące od 227 kobiet oraz w tkance łożyskowej i krwi pępowinowej pobranych od 9 noworodków urodzonych drogami natury. Dodatkowo, porównywano wzór inaktywacji chromosomu X u dzieci poczętych naturalnie jak i za pomocą technik wspomaganego rozrodu. Wyniki badań wykazały, że wzorce inaktywacji chromosomu X różnią się w zależności od wieku kobiet jak i rodzaju badanej tkanki. Natomiast nie stwierdzono istotnych różnic we wzorze inaktywacji chromosomu X między dziećmi poczętymi naturalnie a tymi poczętymi za pomocą IVF, co sugerowałoby, że metoda poczęcia pozaustrojowego nie wpływa na proces inaktywacji chromosomu X. Jakkolwiek badanie obejmowało małą grupę 38 dziewczynek w tym 4 pary bliźniąt. Należy zauważyć, że poddana badaniu i analizie tkanka łożyskowa nie jest jednorodna pod względem metylacji choć globalnie wykazuje hipometylację to można w niej odnaleźć duże obszary o niskiej metylacji (PMDs), które otoczone są przez obszary o wysokiej metylacji (HMDs). Ponadto wewnątrz obszarów o niskiej metylacji PMDs występują mniejsze wyspy cechujące się hipermetylacją promotora CpG ale globalna metylacja dla tego obszaru wciąż wykazuje sumaryczną hipometylację. Stąd bardzo istotny jest dokładny opis metody pobrania i zabezpieczenia tkanki łożyskowej by uzyskane wyniki molekularne mogły zostać poddane porównaniu i interpretacji. Ograniczeniem badania jest zarówno mała liczebność grupy (materiał uzyskano od 9 urodzonych o czasie noworodków) jak i brak oceny produktów tj. białek kodowanych przez poddane analizie geny, co w żaden



sposób nie umniejsza wartości pracy, która przyczynia się do lepszego zrozumienia procesów inaktywacji chromosomu X u ludzi.

Artykuł "Female Fabry disease patients and X chromosome inactivation" skupia się na analizie wpływu nielosowej inaktywacji chromosomu X na obecność objawów i nasilenie choroby Fabry'ego u kobiet. Doktorantka wskazuje, że zróżnicowana intensywność ciężkości objawów choroby Fabry'ego nie jest zależna od występującego w komórkach wzoru inaktywacji chromosomu X, podczas gdy u kobiet o losowej inaktywacji chromosomu X będących nosicielkami mutacji w obrębie genu *GLA* objawy choroby mogą ujawnić się w różnym nasileniu. Również specyficzne mutacje w obrębie genu *GLA* mogą mieć potencjalny wpływ na fenotyp tej choroby. Autorka zwraca uwagę, że wzór inaktywacji chromosomu X jest jednym z wielu czynników, który wpływa na złożoność tej choroby. Zrozumienie tego zagadnienia może pomóc w identyfikacji kobiet z większym ryzykiem nasilenia objawów oraz wpłynie na wdrożenie lepszych strategii terapeutycznych co pozwoli na zminimalizowanie skutków tej choroby.

Na podstawie przeprowadzonych badań i ich wyników opublikowanych w powyższych artykułach Doktorantka postawiła 8 trafnych wniosków wskazując, że zjawisko nielosowej inaktywacji chromosomu X jest powszechne w ogólnej populacji kobiet a jej wzór zależy od wieku kobiety i rodzaju badanej tkanki a przeprowadzone procedury IVF wydają się być bez znaczenia w tym zakresie. Ponadto nielosowa inaktywacja chromosomu X nie jest głównym czynnikiem odpowiedzialnym za manifestację choroby Fabry'ego u heterozygotycznych kobiet. Postawione wnioski odpowiadają celowi pracy i mają potencjalne znaczenie kliniczne.

Zakończenie przedłożonego cyklu prac stanowi poglądowy artykuł pt. "Dosage compensation in females with X linked metabolic disorders", który jest obszernym kompendium wiedzy na temat mechanizmów kompensacyjnych u kobiet będących nosicielkami mutacji związanych z wystąpieniem chorób metabolicznych sprzężonych z



chromosomem X. Doktorantka podkreśla znaczenie mechanizmów kompensacji w kontekście fenotypu i nasilenia objawów chorób związanych z chromosomem X. Różnice w ekspresji genów, spowodowane zarówno wzorem inaktywacji chromosomu X, jak i innymi mechanizmami kompensacji obejmującymi regulację transkrypcji i translacji mogą przyczyniać się do zmienności wystąpienia objawów chorobowych między różnymi osobami będącymi nosicielkami tej samej mutacji. Według Autorki zrozumienie tych mechanizmów może przyczynić się do poprawy opieki nad tą grupą chorych.

Podsumowując – przedstawiony do oceny cykl prac stanowiący podstawę przewodu doktorskiego z pt. „Inaktywacja chromosomu X w zaburzeniach metabolizmu i u osób zdrowych” spełnia warunki określone 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) w związku z 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 (tj.: Dz.U. z 2017 r., poz. 1789) w związku z powyższym wnoszę do Rady Dyscypliny Nauki biologiczne Uniwersytetu Gdańskiego o dopuszczenie mgr Patrycji Juchniewicz do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Biorąc pod uwagę innowacyjność przeprowadzonych badań, znakomite publikacje będące ich wynikiem, wysoki zbiorczy IF znacznie przekraczający wymagania stawiane pracom doktorskim wnoszę o wyróżnienie pracy.

Andrzej Śliabek