

UNIwersYTET MEDYCZNY
W BIAŁYMSTOKU
Zakład Medycyny Sądowej

15-230 Białystok 8
tel. 085 748-59-50, tel/fax 085 748-59-85



MEDICAL UNIVERSITY
OF BIALYSTOK
Department of Forensic Medicine

15-230 Białystok 8
tel. +48 85748-59-50, tel/fax +48 85748-59-85

Białystok, 23.02.2017

prof. dr hab. Witold Pepiński
Zakład Medycyny Sądowej
Uniwersytet Medyczny w Białymstoku

OPINIA

o rozprawie doktorskiej lek. med. Rafała Wojtkiewicza

**pt. *Analiza polimorfizmu 12 regionów autosomalnego DNA systemu HDplex
w badaniach genetyczno-sądowych***

Analiza polimorfizmów DNA oparta na reakcji łańcuchowej polimerazy i fluorescencyjnej detekcji produktów stanowi obecnie podstawę badań stosowanych w genetycznej identyfikacji człowieka. Opinia wydawana przez eksperta kryminalistyki opiera się na rachunku prawdopodobieństwa, co skłania do poszukiwania wciąż nowych fragmentów DNA, spełniających surowe kryteria narzucone przez wymiar sprawiedliwości.

Z uwagi na występowanie różnych rozkładów częstości alleli markerów STR w populacjach, dla określania wartości prawdopodobieństwa przypadkowej zgodności wymagana jest wiedza o statystycznych własnościach każdego *locus* pod warunkiem braku odchylenia od równowagi Hardy-Weinberga zweryfikowanej przy użyciu odpowiednich testów statystycznych.

1) Ocena merytoryczna:

a. *Trafność podjętej problematyki badawczej i jej oryginalność:*

Przechodząc do właściwej merytorycznej i formalnej oceny rozprawy doktorskiej stwierdzam, że dobór tematu przez Autora był trafny i godny zainteresowania z punktu widzenia genetyki sądowej. Markery kandydujące do wykorzystania w ekspertyzie genetycznej dla potrzeb sądowych muszą spełnić szereg surowych kryteriów, ponieważ na podstawie ich analizy biegły wydaje opinię posiadającą wartość dowodową. Znanych jest obecnie kilkadziesiąt markerów STR wykorzystywanych w genetyce sądowej, zwykle w postaci zestawów multipleksowych, których siła dyskryminacji jest w większości przypadków wystarczająca do identyfikacji osoby. Istnieją jednak przypadki, w których konieczne staje się rozszerzenie badań o dodatkowe markery STR w celu zwiększenia siły dyskryminacji wyniku ekspertyzy. Z tego powodu poszukiwane są ciągle nowe systemy, spełniające szereg kryteriów pozwalających zakwalifikować je do identyfikacji osób. W świetle ciągłego rozwoju naukowego i technologicznego można założyć, że stosowane wcześniej, jako i wielce przydatne obecnie, metody identyfikacji genetycznej będą w niedalekiej przyszłości zastąpione bardziej skutecznymi. Dzięki temu rosną potencjalne możliwości rozstrzygnięcia wielu nierozwiązanych spraw kryminalnych. Tendencję taką można wyraźnie wysnuć także z dysertacji Doktoranta.

b. *Ocena uzyskanych wyników i ich znaczenie dla nauki i praktyki:*

Dostępne piśmiennictwo naukowe z zakresu identyfikacji człowieka nie dostarcza wielu danych populacyjnych dotyczących pozasystemowych markerów zawartych m.in. w zestawie handlowym Investigator HDplex. W recenzowanej rozprawie przeprowadzona została analiza wyników oznaczeń uzyskanych dla próbki populacyjnej Polski centralnej. Według mojej wiedzy jest to jedyna tak obszerna i kompleksowa baza danych poszerzająca informację o polimorfizmach STR wśród ludności Polski, a zatem z powodzeniem mogąca stanowić referencyjną bazę do obliczeń częstości wystąpienia profilu DNA. Na podstawie porównawczej analizy rozkładów alleli poszczególnych markerów Autor dokonał oszacowania stopnia pokrewieństwa genetycznego, które odzwierciedla dystans genetyczny dzielący badaną populację z wybranymi populacjami na świecie, oraz stanowi przydatne narzędzie w badaniu powiązań filogenetycznych. Autor obliczył też wartości parametrów statystycznych, które stały się podstawą do uznania wysokiej przydatności badanego multipleksu w badaniach z zakresu genetyki sądowej, jak również w ocenie chimeryzmu po alloprzeszczepach szpiku kostnego. Na uwagę zasługuje poruszenie przez Doktoranta

zagadnień związanych z czynnikami o potencjalnym wpływie na wyniki obliczania parametrów wartości dowodowej ekspertyz genetycznych, takimi jak mutacyjność oraz nierównowaga sprzężeń. Ta ostatnia ma szczególnie w sytuacji poszukiwania kompromisu między tendencją do typowania coraz większych ilości markerów a skutkami możliwości ich bliskiej lokalizacji na chromosomie.

c. Poprawność formalno-językowa, stylistyczna i interpunkcyjna:

Manuskrypt napisany jest w sposób poprawny. Autor nie ustrzegł się nielicznych błędów literowych i kalek językowych, które nie wpływają na wysoką ocenę rozprawy, jednak powinny zostać usunięte przed jej ewentualnym przygotowaniem do publikacji. Uważam, że określenie pochodzenia referencyjnych prób populacyjnych jako Afryka, czy Ameryka (str. 29 i dalsze) jest zdecydowanie zbyt ogólne, wzięwszy pod uwagę rozmiary tych kontynentów i genetyczne zróżnicowanie zamieszkujących je populacji i grup etnicznych. Pewne wątpliwości budzi użycie sformułowania 'populacja kaukaska' – mającego zapewne odniesienie do grup ludności rasy białej (kaukaskiej lub europejskiej). Do rasy tej zaliczają się z kolei populacje zamieszkujące określone obszary geograficzne. Podany na str. 74 indeks ojcostwa przy prawdopodobieństwie 99,9999% jest obliczony błędnie i powinien wynosić 1 000 000.

2) Ocena metodologiczna:

a. *Dobór literatury, umiejętności wykorzystania źródeł:*

We WSTĘPIE rozprawy Doktorant szczegółowo opisał zagadnienia związane z administracyjnymi i prawnymi aspektami profilowania DNA oraz tworzeniem baz danych profili genetycznych. Ta część rozprawy oparta jest na przeglądzie aktualnych doniesień z piśmiennictwa i stanowi doskonale wprowadzenie czytelnika w zagadnienia, które zostały przedstawione w CELACH pracy. W rozwiniętej DYSKUSJI Doktorant przedstawił, oparte na bogatym materiale faktograficznym własne spostrzeżenia i uwagi, konfrontując je i polemizując z poglądami innych badaczy zawartych w obszernym PIŚMIENICTWIE liczącym 152 pozycje. Autor odniósł się również do treści licznych aktów prawnych oraz dokumentów komisji i organów doradczych zajmujących się standaryzacją badań genetycznych na potrzeby organów ścigania i wymiaru sprawiedliwości. Ta część rozprawy wskazuje na dobrą znajomość literatury przedmiotu i dużą swobodę posługiwania się zawartymi w niej danymi.

b. Poprawność formułowania problemów i hipotez (założenia badawcze):

Doktorant prawidłowo sformułował główny problem badawczy, polegający na kompleksowej ocenie przydatności w badaniach genetyczno-sądowych multipleksowego zestawu Investigator HDplex. W tym celu przeprowadził analizę rozkładów częstości alleli, obliczył parametry biostatystyczne i porównał je z danymi opublikowanymi dla innych populacji oraz w odniesieniu do innych komercyjnych zestawów badawczych. Hipotezy i założenia badawcze zostały sformułowane poprawnie, są precyzyjne i jednoznaczne oraz cechuje je istotność poznawcza. Pozwalają określić zadania badawcze prowadzące do rozwiązania postawionego problemu, wyrażając obszar, przedmiot i zakres studiów literaturowych oraz badań empirycznych.

c. Trafność doboru metod i narzędzi badawczych, umiejętności ich zastosowania:

MATERIAŁY I METODYKA badań zostały opisane szczegółowo w rozdziale zajmującym dziewięć stron rozprawy. Czynności laboratoryjne zostały opisane syntetycznie, większą część zajmuje natomiast przedstawienie parametrów przydatności w badaniach medyczno-sądowych oraz testów statystycznych. Opis zastosowanych metod badawczych nie budzi wątpliwości. Dobór źródeł i ich wykorzystanie oceniam jako wyróżniający aspekt recenzowanej pracy. Godne podkreślenia w aspekcie wiarygodności statystycznej przedstawionych wyników jest wykorzystanie bardzo obszernego, liczącego 941 próbek, materiału populacyjnego, na podstawie którego wykazano przydatność badanych markerów w indywidualizacji materiału biologicznego. Doktorant posłużył się zweryfikowanymi metodami statystycznymi stosowanymi w laboratoriach zajmujących się identyfikacją genetyczną i gwarantującymi wysoką jakość wyników. Oceniając fazę badawczą pracy należy uznać, że Doktorant włożył wiele wysiłku w realizację założonego celu.

d. Poprawność układu rozprawy i struktury podziału treści:

Przedstawiona do oceny rozprawa liczy łącznie 102 strony maszynopisu, 35 rycin i 22 tabele. Rozprawa jest napisana w sposób interesujący i zrozumiały i posiada właściwy układ rozdziałów, typowy dla rozpraw na stopień doktora nauk medycznych. Proporcje między teoretyczną i praktyczną warstwą pracy uważam za wyważone. Treść kończy się czterema wnioskami odpowiadającymi postawionym CELOM. WYNIKI badań Autor przedstawił w większości w formie opisu oraz graficznie za pomocą czytelnych tabel i rycin, które ułatwiają merytoryczną interpretację warstwy tekstowej i dodatkowo dokumentują doskonałe przygotowanie do działalności naukowej.

e. *Wniosek końcowy, konkluzja:*

Lektura powyższych rozdziałów pozwala na wysunięcie wniosku, że Doktorant posiada obszerną wiedzę praktyczną i teoretyczną w obszarze zagadnień poruszanych w dysertacji. W ocenie merytorycznej stwierdzam, że problem zawarty w przedłożonej mi do oceny rozprawie doktorskiej został jednoznacznie sprecyzowany i uzasadniony. Założenia pracy w relacji do stanu wiedzy były poprawne, zaś aktualność i znaczenie tych badań, zarówno poznawcze jak i praktyczne, w pełni odpowiadają aktualnym problemom współczesnej genetyki sądowej.

Z satysfakcją stwierdzam, że rozprawa doktorska lek. med. Rafała Wojtkiewicza pt. *Analiza polimorfizmu 12 regionów autosomalnego DNA systemu HDplex w badaniach genetyczno-sądowych* jest napisana w sposób dojrzały i świadczy o znajomości tematu, umiejętnym wyborze metodyki badawczej oraz stanowi samodzielne rozwiązanie przez Autora problemu naukowego. Spełnia zatem wszelkie warunki rozprawy na stopień doktora nauk medycznych.

Uważam także, że przedstawiona mi do recenzji rozprawa doktorska jest cenna i powinna być uznana za wyróżniającą się, gdyż opisane w niej badania nie tylko w sposób istotny przyczyniły się do pogłębienia wiedzy dotyczącej analizy markerów genetycznych w procesie wykrywczym, ale także inspirują do dalszych studiów.

Mam zaszczyt przedstawić Wysokiej Radzie Wydziału Lekarskiego Uniwersytetu Medycznego w Łodzi wniosek o dopuszczenie lek. med. Rafała Wojtkiewicza do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

prof. dr hab. n. med. Witold Pepiński

