

Olsztyn, 10.01.2024 r.

Prof. dr hab. n. med.
Marcin Mycko
Kierownik
Kliniki Neurologii
Collegium Medicum
Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego

PAN - Instytut Immunologii
Wpł. dnia ...19.01.2024...
L.dz.17.....

**Recenzja rozprawy na stopień naukowy doktora
w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych
w dyscyplinie nauki biologiczne
magister inżynier Joanny Skrzymowskiej
pod tytułem
„Ocena biochemiczna i czynnościowa efektów mutacji punktowej *Arg1098Gln* łańcucha
II spektryny w modelach *in vitro* i *in vivo*”**

Jako recenzent Rozprawy na Stopień Naukowy Doktora, autorstwa mgr inż. Joanny Skrzymowskiej, wykonanej w Instytucie Immunologii i Terapii Doświadczalnej in. Ludwiga Hirszfelda Polskiej Akademii Nauk, której promotorem jest Prof. dr hab. Arkadiusz Miązek, pragnę podkreślić śmiałość i wagę tematu podjętego przez Doktorantkę. Ocena mechanizmów biochemicznych regulujących funkcję neuronów stanowi kluczowe zagadnienie badań neurobiologicznych. Poznanie kolejnych szlaków powiązań biorących udział w funkcjonowaniu tych komórek otwiera nowe obszary dla dalszej eksploracji fascynującej biologii najbardziej skomplikowanej znanej nam struktury – mózgu. Badania te są tym ważniejsze, jeśli mają one implikacje dla zrozumienia mechanizmów schorzeń tego narządu. W tym zakresie szczególnie trudne i ciągle pozbawione skutecznych metod ingerencji terapeutycznej są schorzenia neurodegeneracyjne. Dlatego wysoko oceniam badania podjęte w przedstawionej mi Rozprawie oraz próby praktycznego ich przełożenia na lepsze rozumienie procesów neurozwyrodnieniowych *in vivo*.

Tekst Rozprawy wraz z wszystkimi załącznikami obejmuje 120 stron tekstu. Cała Rozprawa podzielona została na kilka głównych rozdziałów: Wstęp, Cel pracy, Materiały i Metody, Wyniki, Dyskusja i wnioski, Podsumowanie, Piśmiennictwo. Te główne i tradycyjne

części Rozprawy uzupełnione są Wykazem skrótów, Streszczeniem pracy w języku polskim oraz streszczenie w języku angielskim („Summary”), Spisem rycin i tabel.

Wstęp do Rozprawy jest obszerny i dobrze przybliży niełatwe zagadnienia molekularne, biochemiczne i funkcjonalne rodziny białkowej spektryn. Opisane tam także zostały najważniejsze białka oddziałujące ze spektrynami, m.in. kalmodulina, kalpains czy kalpastatyna. Dużo miejsca poświęcono też streszczeniu znanych mechanizmów degradacji spektryn oraz możliwym konsekwencjom patologicznym tych procesów. Wreszcie, przedstawione zostały linie myszy: R1098Q, spontaniczna mutacji szczepu C57Bl/6 zmieniająca domenę CCC w 10 powtórzeniu spektrynowym, oraz linia myszy transgenicznych Prp-hCAST, wykazująca nadekspresję kalpastatyny pod kontrola promotora prionowego. Na podkreślenie zasługuje fakt, iż Wstęp ma przejrzysty i logiczny układ, stanowiąc udane wprowadzenie do dalszych części rozprawy i pozwalając właściwie zrozumieć problem przedstawiany w tej Dysertacji.

Cele pracy stanowią logiczną kontynuację Wstępu, są ambitne i adekwatne do aktualnego stanu wiedzy i dotychczasowych publikacji. Rozdział Materiały i metody jest obszerny, co było konieczne dla dobrego przedstawienia szerokiego zakresu wykorzystanych technik badań biochemicznych, molekularnych i neurobiologicznych, obejmujących analizy *in silico*, *in vitro* i *in vivo*.

Kolejna część, Wyniki, obejmuje opis rezultatów przeprowadzonych analiz. Logicznie i konsekwentnie opisany został szeroki zakres przeprowadzonych badań i uzyskanych w ich efekcie wyników. Nie ma najmniejszych wątpliwości, iż rezultaty podjętych badań zaowocowały ważnymi danymi i mają charakter prawdziwego odkrycia naukowego. Pozwolę sobie jednak na krytyczną uwagę wobec jakości ryciny nr 28 (lub wobec dostępnej mi reprodukcji tej Ryciny), która niezbyt wyraźnie pokazuje komórki mózgowo oraz ujawnione w wykonanych barwieniach struktury wewnątrzkomórkowe.

Mam następujące pytania do rozdziału Wyniki:

1. Czy analizowane były zmiany w innych niż neurony typach komórek ośrodkowego układu nerwowego wywołane obecnością mutacji R1098Q (np. astrocyty, oligodendrocyty lub mikroglej)?

2. Czy oceniane były zmiany poziomów biopskaźników neurodegeneracji u myszy R1098Q oraz R1098Q +hCAST (np. poziomy lekkich neurofilamentów w krwi)?

W rozdziale Dyskusja i Wnioski Doktorantka przeprowadziła analizę uzyskanych wyników. Świetnie argumentuje wykazując rolę i znaczenie rezultatów swoich badań w kontekście znanych już funkcji spektryn i możliwego znaczenia modyfikacji ich degradacji spowodowanego obecnością mutacji R1098Q. Rozdział poświęcony Podsumowaniu jest dobry przypomnieniem i zebraniem najważniejszych uzyskanych wyników w kontekście celów pracy. Piśmiennictwo obejmuje 178 pozycji, ułożonych pod względem kolejności ich cytowania w pracy. Są to niemal wyłącznie publikacje w języku angielskim. Wszystkie pozycje piśmiennicze są współczesne i zostały trafnie dobrane, reprezentując aktualny stan wiedzy.

Rozprawa zawiera również informację o trzech publikacjach powstałych w związku z realizacją pracy doktorskiej. Doktorantka jest pierwszym, drugim i trzecim współautorem w tych pracach. Prace te, jako opracowania które musiały przejść przed publikacją pełną i pozytywną ocenę recenzencką, dokumentują wartość i wagę opisanych w Rozprawie badań.

W podsumowaniu recenzji mam przyjemność stwierdzić, iż rozprawa doktorska magister inżynier Joanny Skrzymowskiej spełnia warunki określone w art. 187 ust. 1-4 Ustawy *Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce* (Dz.U. 2018 poz. 1668 z późn. zm.). Tym samym Dysertacja ta spełnia wymagania stawiane pracom na stopień naukowy doktora w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych w dyscyplinie nauki biologiczne i stawiam wnioski o dopuszczenie Autorki do dalszych etapów przewodu doktorskiego oraz o wyróżnienie przedstawionej mi Rozprawy.

Z poważaniem

Kierownik Kliniki Neurologii


prof. dr hab. n. med. Marcin Mycko