Pomorski Uniwersytet Medyczny w Szczecinie

**Zakład Badań Biochemicznych**
**Ul. Broniewskiego 24, 71-460 Szczecin**
**Kierownik: prof. dr hab. n. med. i o zdr. inż. Karolina Skonieczna-Żydecka**

Szczecin, 20.06.2026

**Recenzja rozprawy doktorskiej**

**mgr Anny Olechnowicz**

pt. **„Analiza transkryptomiczna wybranych narządów myszy w zwierzęcym modelu choroby Huntingtona”**

Rozprawa doktorska mgr Anny Olechnowicz pt. *Analiza transkryptomiczna wybranych narządów myszy w zwierzęcym modelu choroby Huntingtona* została przygotowana w Zakładzie Histologii i Embriologii Kolegium Nauk Medycznych Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu pod kierunkiem prof. dr. hab. Marcina Rucińskiego oraz promotora pomocniczego dr n. med. Małgorzaty Blatkiewicz .

Przedmiotem rozprawy jest analiza zmian transkryptomicznych w wybranych narządach obwodowych mysich modeli choroby Huntingtona, ze szczególnym uwzględnieniem nadnerczy oraz mięśniówki podskórnej. Praca wpisuje się w aktualny i bardzo ważny nurt badań nad chorobą Huntingtona jako schorzeniem ogólnoustrojowym, wykraczającym poza klasycznie rozumianą patologię ośrodkowego układu nerwowego. Podstawę rozprawy stanowi cykl trzech publikacji naukowych, obejmujących analizę deregulacji transkryptomu nadnerczy w modelu R6/2, ocenę ekspresji genów związanych z funkcjami fizjologicznymi nadnerczy w modelu R6/1 oraz charakterystykę zmian ekspresji genów związanych z macierzą pozakomórkową w mięśniówce podskórnej modelu R6/2.

Już na wstępie należy podkreślić, że rozprawa stanowi bardzo dojrzałe, spójne i znakomicie przygotowane opracowanie naukowe. Zarówno koncepcja badań, jak i ich realizacja oraz sposób prezentacji wyników zasługują na bardzo wysoką ocenę. Praca jest logicznie skonstruowana, dobrze osadzona w literaturze, napisana klarownie i prowadzi czytelnika od uzasadnienia problemu badawczego, przez hipotezę i cele, aż do spójnej interpretacji wyników.

Na szczególne uznanie zasługuje konsekwentne pokazanie choroby Huntingtona jako patologii

wielonarządowej oraz wskazanie, że zmiany molekularne w tkankach obwodowych mogą mieć znaczenie dla pełniejszego zrozumienia patogenezy choroby.

Recenzja została przygotowana z uwzględnieniem trzech zasadniczych kryteriów oceny rozprawy doktorskiej: prezentacji ogólnej wiedzy teoretycznej kandydatki, wykazania umiejętności samodzielnego prowadzenia pracy naukowej oraz oryginalnego rozwiązania problemu naukowego.

**1. Ocena ogólnej wiedzy teoretycznej Doktorantki**

Rozprawa jednoznacznie potwierdza bardzo dobrą ogólną wiedzę teoretyczną Doktorantki w zakresie biologii molekularnej choroby Huntingtona, modeli zwierzęcych chorób neurodegeneracyjnych, transkryptomiki, analizy ekspresji genów, biologii nadnerczy, funkcji mięśni szkieletowych oraz bioinformatycznej interpretacji danych wielkoskalowych.

Wprowadzenie zostało przygotowane bardzo starannie. Autorka w sposób jasny i logiczny omawia chorobę Huntingtona jako postępujące schorzenie neurodegeneracyjne, którego podłożem jest ekspansja powtórzeń CAG w genie *HTT*, prowadząca do powstania zmutowanej huntingtyny. Bardzo dobrze przedstawiono również znaczenie modeli R6/1 i R6/2, ich różnice fenotypowe oraz przydatność w badaniach nad molekularnymi mechanizmami choroby.

Szczególnie wartościowe jest konsekwentne przesunięcie perspektywy z ujęcia wyłącznie neurocentrycznego na ujęcie ogólnoustrojowe. Doktorantka przekonująco uzasadnia, że obecność zmutowanej huntingtyny nie ogranicza się do komórek ośrodkowego układu nerwowego, lecz może wpływać również na tkanki obwodowe, w tym nadnercza i mięśnie poprzecznie prążkowane. Taka narracja jest bardzo dobrze powiązana z celami rozprawy.

Na wysoką ocenę zasługuje również część dotycząca nadnerczy. Autorka szczegółowo omawia ich znaczenie w regulacji funkcji neuroendokrynnych, biosyntezie katecholamin i hormonów steroidowych oraz potencjalnym udziale w objawach choroby Huntingtona. Równie dobrze uzasadniono wybór mięśniówki podskórnej jako interesującego, dotychczas słabo scharakteryzowanego modelu tkanki obwodowej, szczególnie w kontekście zaburzeń mięśniowych i mimicznych obserwowanych w chorobie Huntingtona.

Wiedza teoretyczna Doktorantki jest nie tylko szeroka, ale przede wszystkim funkcjonalnie wykorzystana do zbudowania dobrze uzasadnionej hipotezy badawczej. Autorka nie ogranicza się do przytoczenia danych literaturowych, lecz umiejętnie wykorzystuje je do wskazania

realnej luki poznawczej. Oceniany fragment wprowadzający stanowi wzorcowy przykład dobrze przygotowanego uzasadnienia pracy doktorskiej.

Stwierdzam, że rozprawa w pełni i bez zastrzeżeń prezentuje ogólną wiedzę teoretyczną Doktorantki w dyscyplinie nauki medyczne.

**2. Ocena umiejętności samodzielnego prowadzenia pracy naukowej**

Rozprawa bardzo dobrze dokumentuje umiejętność prowadzenia pracy naukowej przez Doktorantkę. Przedstawiony cykl publikacji obejmuje badania z wykorzystaniem zaawansowanych metod analizy ekspresji genów, mikromacierzy, qPCR, analiz bioinformatycznych, porównań z publicznymi repozytoriami danych oraz analiz immunohistochemicznych.

Zakres zastosowanych metod wskazuje na bardzo dobre przygotowanie warsztatowe i zdolność pracy z danymi wielkoskalowymi. Szczególnie istotne jest to, że Doktorantka nie ograniczyła się do wygenerowania list genów o zmienionej ekspresji, lecz przeprowadziła ich pogłębioną interpretację funkcjonalną. Analizy zostały osadzone w kontekście biologii narządów, funkcji nadnerczy, biosyntezy katecholamin, steroidogenezy, struktury macierzy pozakomórkowej i potencjalnych mechanizmów obwodowej patologii choroby Huntingtona.

Bardzo pozytywnie oceniam także konstrukcję całej rozprawy. Cele zostały sformułowane jasno i wynikają bezpośrednio z przedstawionej luki poznawczej. Autorka wskazuje, że głównym celem badań było scharakteryzowanie zmian transkryptomicznych w nadnerczach oraz mięśniówce podskórnej mysich modeli R6/1 i R6/2 w stadium pełnej manifestacji objawów chorobowych. Następnie konsekwentnie przedstawia, w jaki sposób kolejne publikacje realizują te założenia.

Na szczególne uznanie zasługuje dojrzałość interpretacyjna. Doktorantka potrafi odróżnić dane bezpośrednio wynikające z analiz od ich znaczenia biologicznego i translacyjnego. W pracy wielokrotnie podkreślono zarówno znaczenie uzyskanych wyników, jak i konieczność dalszych badań funkcjonalnych oraz ostrożność w przenoszeniu obserwacji z modeli zwierzęcych na człowieka. Taka postawa świadczy o bardzo dobrej dojrzałości naukowej.

Warto również podkreślić imponującą aktywność naukową Doktorantki. W rozprawie przedstawiono dorobek obejmujący 15 publikacji naukowych, w tym 14 publikacji z Impact Factor, sumaryczny IF 52,8 oraz łączną punktację MNiSW 1420 pkt. Autorka była również aktywna konferencyjnie, brała udział w projektach naukowych, kierowała Małym Grantem

Badawczym Szkoły Doktorskiej oraz otrzymała wyróżnienia za wystąpienia naukowe. Ten dorobek znacząco przekracza standardowo oczekiwany poziom na etapie doktoratu i bardzo dobrze świadczy o jej samodzielności, aktywności i potencjale naukowym.

Nie zgłaszam zastrzeżeń do sposobu prowadzenia badań ani prezentacji wyników. Praca jest przygotowana starannie, przejrzyście i z dużą kulturą naukową. Stwierdzam, że rozprawa w pełni wykazuje umiejętność samodzielnego prowadzenia pracy naukowej przez Doktorantkę.

**3. Ocena oryginalności rozwiązania problemu naukowego**

Rozprawa stanowi oryginalne rozwiązanie ważnego problemu naukowego, jakim jest określenie molekularnych podstaw zmian zachodzących w tkankach obwodowych w przebiegu choroby Huntingtona. Szczególnie wartościowe jest odejście od klasycznego, dominującego w literaturze ujęcia choroby Huntingtona jako patologii przede wszystkim ośrodkowego układu nerwowego i zwrócenie uwagi na narządy obwodowe, które mogą współtworzyć fenotyp choroby.

Oryginalność pracy polega przede wszystkim na kompleksowej analizie transkryptomicznej nadnerczy oraz mięśniówki podskórnej w modelach R6/1 i R6/2. Autorka wykazała, że obecność zmutowanej huntingtyny prowadzi do złożonych, tkankowo swoistych zmian w ekspresji genów, obejmujących procesy metaboliczne, endokrynne, strukturalne i związane z integralnością tkanek. Wyniki te poszerzają wiedzę o ogólnoustrojowym charakterze choroby Huntingtona.

W publikacji dotyczącej nadnerczy modelu R6/2 wykazano wyraźną przewagę genów o obniżonej ekspresji oraz zidentyfikowano zaburzenia w szlakach związanych m.in. z metabolizmem cholesterolu, koagulacją krwi, steroidogenezą, biosyntezą katecholamin i metabolizmem ksenobiotyków. Szczególnie wartościowe jest porównanie uzyskanych danych z wynikami dostępnymi w publicznych repozytoriach oraz wykazanie narządowo swoistego charakteru obserwowanych zmian.

W publikacji dotyczącej modelu R6/1 Doktorantka wykazała istotne obniżenie ekspresji genów związanych z biosyntezą katecholamin, przy jednoczesnym braku istotnych zmian w ekspresji genów steroidogenezy. Wynik ten jest bardzo interesujący, ponieważ wskazuje na selektywność zaburzeń funkcjonalnych oraz różnice między modelami o odmiennym nasileniu fenotypu.

Trzecia publikacja, dotycząca mięśniówki podskórnej, jest szczególnie ciekawa koncepcyjnie. Autorka wskazuje na obniżenie ekspresji genów związanych z macierzą pozakomórkową, w tym *Col12a1* i *Eln*, co może mieć znaczenie dla integralności strukturalnej tkanki mięśniowej. Wybór mięśniówki podskórnej jako modelu do analizy zmian transkryptomicznych w chorobie Huntingtona jest oryginalny i dobrze uzasadniony. Praca ta rozszerza zakres znanych obwodowych zmian w HD i otwiera nowe kierunki badań nad udziałem tkanek mięśniowych oraz macierzy pozakomórkowej w patogenezie choroby.

Na bardzo wysoką ocenę zasługuje także sposób formułowania wniosków. Są one syntetyczne, logiczne i bezpośrednio wynikają z uzyskanych danych. Autorka trafnie wskazuje, że obecność mHTT prowadzi do złożonych i tkankowo swoistych zmian transkrypcyjnych, a obserwowane różnice między narządami sugerują selektywną deregulację określonych procesów biologicznych zależną od kontekstu komórkowego i fizjologicznego.

Stwierdzam, że rozprawa stanowi oryginalne i wartościowe rozwiązanie problemu naukowego oraz istotnie poszerza wiedzę na temat molekularnych podstaw obwodowych aspektów choroby Huntingtona.

**Uwagi szczegółowe**

Nie zgłaszam uwag krytycznych do rozprawy. Praca została przygotowana na bardzo wysokim poziomie merytorycznym, metodologicznym i edytorskim.

Na szczególne podkreślenie zasługują:

1. bardzo dobrze uzasadniona hipoteza badawcza;
2. znakomite osadzenie tematu w aktualnym stanie wiedzy;
3. konsekwentne pokazanie choroby Huntingtona jako schorzenia wielonarządowego;
4. spójne połączenie badań transkryptomicznych, analiz bioinformatycznych i interpretacji funkcjonalnej;
5. bardzo dobra struktura rozprawy;
6. klarowny język i logiczny sposób prowadzenia narracji;
7. wysoka jakość publikacji stanowiących podstawę rozprawy;

8. bardzo dobry dorobek naukowy Doktorantki.

**Pytania do Doktorantki**

Nie formułuję pytań wynikających z uwag krytycznych. Podczas obrony warto natomiast poprosić Doktorantkę o rozwinięcie kilku interesujących aspektów pracy:

1. Które ze zidentyfikowanych genów w nadnerczach i mięśniówce podskórnej uważa Pani za najbardziej obiecujące potencjalne markery progresji choroby Huntingtona?
2. Jakie badania funkcjonalne byłyby według Pani najważniejszym kolejnym krokiem weryfikującym znaczenie zmian transkryptomicznych w tkankach obwodowych?
3. Czy obserwowane zmiany w nadnerczach i mięśniówce podskórnej mogą mieć potencjalne znaczenie translacyjne w kontekście badań materiału ludzkiego?
4. Jakie są najważniejsze różnice interpretacyjne między modelem R6/1 i R6/2 w odniesieniu do funkcji nadnerczy?
5. Czy komponenty macierzy pozakomórkowej w mięśniówce podskórnej mogą być rozważane jako cel dalszych badań nad pozaneuronalnymi objawami choroby Huntingtona?

**Konkluzja końcowa**

Po analizie rozprawy doktorskiej mgr Anny Olechnowicz stwierdzam, że:

1. rozprawa w pełni prezentuje ogólną wiedzę teoretyczną Doktorantki w zakresie biologii molekularnej choroby Huntingtona, transkryptomiki, modeli zwierzęcych, biologii nadnerczy i mięśni szkieletowych;
2. rozprawa jednoznacznie wykazuje umiejętność samodzielnego prowadzenia pracy naukowej, w tym planowania badań, analizy danych wielkoskalowych, interpretacji biologicznej i formułowania wniosków;
3. rozprawa stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego, polegające na kompleksowej charakterystyce zmian transkryptomicznych w tkankach obwodowych mysich modeli choroby Huntingtona.

Rozprawa jest bardzo wartościowa, nowoczesna, spójna i znakomicie przygotowana. Zarówno zakres badań, jak i sposób ich przedstawienia zasługują na bardzo wysoką ocenę. Praca istotnie poszerza wiedzę na temat choroby Huntingtona jako schorzenia wielonarządowego i wskazuje nowe kierunki badań nad obwodowymi mechanizmami jej patogenezy.

W związku z powyższym oceniam rozprawę doktorską mgr Anny Olechnowicz jednoznacznie pozytywnie i stwierdzam, że spełnia ona z naddatkiem wymagania stawiane rozprawom doktorskim. Wnoszę o dopuszczenie mgr Anny Olechnowicz do dalszych etapów postępowania w sprawie nadania stopnia doktora.