Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu
ul. Wojska Polskiego 48
60-627 Poznań
tel. +48 61 846 6024
e-mail: marcin.schmidt@up.poznan.pl

WYDZIAŁ NAUK O ŻYWNOŚCI I ŻYWIENIU
Katedra Biotechnologii i Mikrobiologii Żywności

Poznań, 30 czerwca 2026r.

Recenzja rozprawy doktorskiej Pani mgr Anny Olechnowicz
pt. Analiza transkryptomiczna wybranych narządów myszy w zwierzęcym modelu choroby Huntingtona

Niniejsza recenzja została sporządzona na podstawie uchwały nr 69/2026 z dnia 27.04.2026 r. Kapituły Kolegium Nauk Medycznych UM w Poznaniu, powołującej mnie na recenzenta rozprawy doktorskiej Pani mgr Anny Olechnowicz pt.: „Analiza transkryptomiczna wybranych narządów myszy w zwierzęcym modelu choroby Huntingtona", słuchaczki Szkoły Doktorskiej UMP w Poznaniu, ubiegającej się o stopień doktora w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu, w dyscyplinie nauki medyczne. Przedstawiona do recenzji dysertacja doktorska została napisana pod promotorstwem Pana prof. dr hab. Marcina Rucińskiego i Pani dr Małgorzaty Blatkiewicz (promotor pomocniczy) w Zakładzie Histologii i Embriologii UMP w Poznaniu. Poddana ocenie praca składa się z 106 stron maszynopisu stanowiącego autoreferat streszczający przeprowadzone badania będące podstawą ubiegania się o stopień doktora opublikowane w formie trzech artykułów naukowych, których kopie zostały załączone do niniejszego manuskryptu. Ponadto manuskrypt zawiera kopie oświadczeń współautorów, oraz orzeczenie Przewodniczącego Lokalnej Komisji Etycznej do Spraw Doświadczeń na Zwierzętach w Poznaniu.

Pomimo upływu ponad 30 lat od identyfikacji zmian genetycznych odpowiedzialnych za występowanie choroby Huntingtona (HD) wciąż nie opracowano na nią leku. Jest to ogólnoustrojowe schorzenie neurodegeneracyjne, aczkolwiek nieprawidłowe zmiany dotyczą także innych tkanek. Molekularne mechanizmy leżące u podstaw obserwowanych dysfunkcji narządów obwodowych wciąż pozostają niewystarczająco scharakteryzowane. Dlatego też, wybór tematyki pracy mgr Anny Olechnowicz trafnie wpisuje się w aktualne problemy badawcze z zakresu patogenezy HD. Praca opisuje kompleksową analizę zmian transkryptomicznych w nadnerczach oraz mięśniówce podskórnej mysiego modelu tej choroby (R6/2 i R6/1) precyzyjnie charakteryzując profil molekularny podłoża zaburzeń indukowanych zmutowaną formą huntingtyny (mHTT). Doktorantka stawia i weryfikuje trafną hipotezę, że akumulacja agregatów mHTT w różnych tkankach prowadzi do specyficznych, zależnych od narządu zmian w ekspresji genów. Na podstawie zidentyfikowanych genów różnicujących wskazuje

potencjalne procesy biologiczne zmienione w wyniku rozwoju procesów chorobowych. Dotyczą one deregulacji procesów metabolicznych, endokrynowych i strukturalnych, co odzwierciedla wielonarządowy charakter choroby.

Recenzowana rozprawa doktorska odpowiada formom przewidzianym w ustawie (art. 187, Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce z dnia 20 lipca 2018 r., ze zmianami). Stanowi tematycznie spójny cykl trzech oryginalnych artykułów naukowych z komentarzem integrującym. Są to publikacje, które ukazały się w czasopismach indeksowanych, uwzględnionych na liście JCR: Olechnowicz A, Blatkiewicz M, Jopek K, Isalan M, Mielcarek M, Rucinski M. Deregulated Transcriptome as a Platform for Adrenal Huntington's Disease-Related Pathology. Int J Mol Sci. 2024;25(4):2176 (publikacja 1); Olechnowicz A, Blatkiewicz M, Isalan M, Koc A, Mielcarek M, Rucinski M. Analysis of gene expression related to adrenal physiological functions in Huntington's disease mouse model. Medical Journal of Cell Biology. Foundation for Cell Biology and Molecular Biology, 2025;13(3): 31-39 (publikacja 2); Olechnowicz A, Blatkiewicz M, Jopek K, Isalan M, Partyka M, Pieścikowska I, Korolczuk U, Ratajczak K, Farynowska J, Lipski J, Mielcarek M, Rucinski M. Downregulation of ECM-Related Genes in the Subcutaneous Muscles of Huntington's Disease Mouse Model. Postępy Biologii Komórki. 2025;52: 125-144 (publikacja 3). We wszystkich artykułach naukowych Doktorantka jest pierwszym autorem, a w większości – także korespondencyjnym. Wskazuje to na Jej dominujący udział w powstaniu tych prac, co potwierdzają także oświadczenia współautorów. Oceniam indywidualny wkład Kandydatki w powstanie artykułów naukowych składających się na rozprawę jako wiodący, samodzielny i wystarczający do uznania rozprawy za podstawę ubiegania się o stopień doktora.

Badania opisane w tych artykułach naukowych pozwoliły Doktorantce zrealizować cele potrzebne do potwierdzenia postawionej hipotezy badawczej Jej pracy dyplomowej. Należały do nich: kompleksowa charakterystyka zmian transkryptomicznych w nadnerczach mysiego modelu R6/2 oraz analiza zaburzeń w ekspresji genów odpowiadających za kluczowe procesy biologiczne tego narządu w modelu R6/1; identyfikacja zmian transkryptomicznych w mięśniówce podskórnej mysiego modelu R6/2; funkcjonalna charakterystyka zmienionych procesów biologicznych; teoretyczna ocena narządowo swoistego charakteru obserwowanych zmian w ekspresji genów w oparciu o porównanie profilu ekspresji badanych tkanek w publicznych repozytoriach danych; określenie poziomu ekspresji endogennego genu Htt i genów funkcjonalnie z nim związanych; oraz identyfikacja potencjalnych biomarkerów progresji choroby i zmian patologicznych w tkankach obwodowych o znaczeniu prognostycznym i predykcyjnym. Zwięzły opis uzyskanych wyników, zawarty w komentarzu integrującym, poprzedzony został wstępem opisującym HD jako schorzenie wielonarządowe, dotychczasowy stan wiedzy w odniesieniu do znaczenia nadnerczy w regulacji objawów tej choroby i zmian transkryptomicznych we włóknach mięśniowych w niej występujących. Prezentuje on szeroką wiedzę teoretyczną Kandydatki doskonale wpisującą się w dziedzinę nauk medycznych i nauk o zdrowiu, w dyscyplinie nauki medyczne. Rozprawa zawiera oryginalne rozwiązanie problemu naukowego polegające na zastosowaniu podejścia 'omicznego' do identyfikacji procesów biologicznych

zaburzonych w tkankach obwodowych w przebiegu HD, przez co znacząco przyczynia się do zrozumienia wielonarządowego charakteru choroby. Założone cele Doktorantka zrealizowała wykorzystując właściwie dobrane metody i techniki analityczne. Dla rozszerzenia ich znaczenia poznawczego wykorzystała także analogiczne wyniki pochodzące z innych opublikowanych badań. Rzetelny opis metodyki gwarantuje powtarzalność badań, a transparentność - publiczne udostępnienie pierwotnych wyników w repozytorium danych. Zastosowane w analizach techniki statystyczne zostały prawidłowo dobrane, a punkty odcięcia przyjęte na właściwych poziomach. Jednocześnie Doktorantka jest świadoma ograniczeń dotyczących uzyskanych rezultatów, co potwierdza Jej dojrzałość naukową. Wyniki Jej badań mają bardzo duże znaczenie poznawcze o bezpośrednim, potencjalnym klinicznym znaczeniu. Mogą stanowić podstawę do identyfikacji nowych biomarkerów o znaczeniu prognostycznym i predykcyjnym, nowych celów terapeutycznych, oraz przyczyniają się do rozwoju medycyny spersonalizowanej.

Publikacja 1 opisuje rezultaty badań globalnej ekspresji genów w nadnerczach myszy modelu R6/2 w celu zrozumienia wpływu mHTT na tkanki obwodowe. Przeprowadzona analiza transkryptomiczna z wykorzystaniem mikromacierzy wykazała deregulację 124 genów (obniżenie ekspresji 105, a wzrost – 19). Analiza bioinformatyczna tych wyników pozwoliła zidentyfikować: zaburzenia metaboliczne (istotne zmiany w procesach metabolizmu cholesterolu i steroli, co może bezpośrednio wpływać na produkcję hormonów steroidowych), zakłócenia w szlakach krzepnięcia krwi oraz metabolizmu ksenobiotyków, obniżenie ekspresji Th (hydroksylaza tyrozynowa) i Ddc (dekarboksylaza dopy), co sugeruje upośledzenie biosyntezy katecholamin (dopaminy i noradrenaliny w nadnerczach). Jednocześnie wykazano, że zmiany te są wywołane wyłącznie przez fragment huntingtyny pochodzący z transgenu (mHTT), ponieważ ekspresja endogennego genu Htt i genów z nim oddziałujących pozostała niezmieniona. Mocne strony tej pracy to nowatorstwo (badanie jako pierwsze tak szczegółowo opisuje wpływ HD na transkryptom nadnerczy, wykraczając poza tradycyjne skupienie się na ośrodkowym układzie nerwowym), zaawansowana metodologia (zastosowanie precyzyjnych narzędzi bioinformatycznych), weryfikacja swoistości (zaobserwowane zmiany są specyficzne dla tkanki nadnerczy i nie wynikają z ogólnych zmian w organizmie, co wykazano porównując wyniki z danymi z innych organów, m.in. mózgu, tkanki tłuszczowej, gałki ocznej), zgodność z danymi klinicznymi (np. wyniki dotyczące obniżonych poziomów apolipoprotein *ApoB* i *ApoA1* są spójne z obserwacjami u pacjentów z HD, co podnosi wartość translacyjną modelu mysiego). Autorzy dostrzegają także słabe strony swoich badań wynikające z małej liczebności próby oraz braku walidacji zaobserwowanych zmian na poziomie białka, do których należy dodać ograniczenie do jednej płci – w badaniach wykorzystano wyłącznie samice, co uniemożliwia ocenę zmienności zależnej od płci. Wyniki badań mają istotne znaczenie dla zrozumienia systemowego charakteru HD. Udowadniają, że mHTT prowadzi do rozległych dysfunkcji obwodowych, które mogą nasilać objawy neurologiczne lub stanowić odrębne jednostki chorobowe współistniejące z HD. Lektura tego artykułu naukowego pozostawiła mi jednak pewien niedosyt. Brakuje w nim teoretycznego

uzasadnienia, dlaczego autorzy wybrali akurat te cztery konkretne geny (*Hap1*, *Hip1*, *Hip1r*, *Hypk*) jako kontrolę układu endogennego. Jakkolwiek, ich wybór uznaję za merytorycznie trafny i wynikający z przyjętej metodologii badania.

Publikacja 2 przedstawia wyniki badań RT-qPCR ekspresji genów w nadnerczach myszy modelu R6/1. Głównym celem badań była ocena zmian w poziomie transkrypcji genów odpowiedzialnych za funkcje fizjologiczne nadnerczy (steroidogenezę i produkcję katecholamin) u myszy R6/1 w porównaniu z grupą kontrolną. Należy wskazać bardzo dobre podejście metodologiczne do realizacji badań. Właściwa analiza została poprzedzona wyborem najbardziej stabilnego genu referencyjnego. Wybrano *Sdha*, wykazując, że regulacja transkrypcji genu *Hprt* jest wrażliwa na stres oksydacyjny występujący w HD. Wykazano istotny statystycznie spadek ekspresji genów kluczowych dla produkcji dopaminy, noradrenaliny i adrenaliny: *Th*, *Ddc*, *Dbh* oraz *Pnmt*. Sugeruje to, że obniżona transkrypcja tych genów może bezpośrednio przyczyniać się do deficytów katecholamin obserwowanych w HD. Analiza nie wykazała żadnych znaczących zmian w poziomie transkrypcji genów zaangażowanych w produkcję hormonów steroidowych (*Cyp11a1*, *Cyp11b1*, *Cyp11b2*, *Cyp21a1*, *Hsd3b1* oraz *Star*). Nie stwierdzono różnic w poziomie ekspresji genu prolaktyny (*Prl*) ani jego receptora (*Prlr*) między badanymi grupami. Mocnymi stronami pracy są: innowacyjność - badanie (podobnie jak to z publikacji 1) wypełnia lukę w literaturze, koncentrując się na profilu transkrypcyjnym nadnerczy, podczas gdy większość prac skupia się na ośrodkowym układzie nerwowym; zastosowanie wysoce specyficznych testów TaqMan pozwoliło na bardzo dokładne określenie zmian w transkrypcji genów, a szczegółowa analiza porównawcza genów referencyjnych (Hprt ~ Sdha) zapewniła rzetelność wyników qPCR w kontekście HD. Słabymi stronami badań opisanych w tej publikacji są brak walidacji wyników na poziomie białka (na co zwracają uwagę sami autorzy), przeprowadzenie badań wyłącznie na samicach oraz wąski zakres czasowy - analizowano myszy w wieku pięciu miesięcy, co nie pozwala na pełną ocenę progresji zmian transkrypcyjnych wraz z rozwojem choroby. W publikacji nie podano konkretnej nazwy ani producenta zestawu do odwrotnej transkrypcji zastosowanego w badaniach. Podsumowując, badania te mają kluczowe znaczenie dla zrozumienia obwodowych manifestacji HD. Potwierdzają, że mHTT wywiera negatywny wpływ na procesy transkrypcyjne w tkankach innych niż mózg, co prowadzi do zaburzeń hormonalnych. Wykazanie podobieństw między modelami R6/1 i R6/2 pomaga w lepszym doborze modeli do przyszłych badań. Zidentyfikowane rozbieżności między modelami zwierzęcymi a danymi klinicznymi od pacjentów (np. w poziomach katecholamin we krwi) wskazują na potrzebę dalszych badań, które mogą poprawić efektywność przekładania wyników badań podstawowych na praktykę kliniczną. Natomiast zrozumienie, które ścieżki metaboliczne w nadnerczach są upośledzone, może w przyszłości pomóc w opracowaniu terapii wspomagających układ hormonalny u pacjentów z HD.

Publikacja 3 dotyczy badań transkryptomicznych w mięśniówce podskórnej mysiego modelu HD (R6/2). Głównym celem pracy była analiza transkryptomu mięśniówki podskórnej myszy R6/2, która dotychczas nie była analizowana w kontekście tej choroby. Analiza mikromacierzowa wykazała 37 genów o istotnie

zmienionej ekspresji, z czego 30 uległo obniżeniu, a 7 podwyższeniu poziomu transkrypcji. Analizy bioinformatyczne (GSEA, DAVID) wykazały, że większość produktów genów o obniżonej ekspresji jest zaangażowana w organizację macierzy pozakomórkowej (ECM) oraz włókien kolagenowych. Do kluczowych genów o obniżonej ekspresji należą *Col12a1* (kolagen typu XII, alfa 1), *Eln* (elastyna) oraz *Tnc* (tenascyna C). Genem o najbardziej obniżonej ekspresji była m.in. leptyna (*Lep*). Z kolei wśród genów o podwyższonej ekspresji znalazły się m.in. *Actc1*, *Mir5100* oraz *Chrna1*. Zaobserwowane zmiany transkryptomiczne wynikają wyłącznie z obecności fragmentu zmienionego genu HTT człowieka, ponieważ ekspresja endogennego mysiego genu *Htt* oraz jego interaktorów (*Hap1*, *Hip1*, *Hip1r*, *Hypk*) pozostała na poziomie grupy kontrolnej. Przeprowadzono weryfikację immunohistochemiczną zidentyfikowanych zmian poziomu transkrypcji: potwierdzono obecność białek ANKRD2, LEP oraz LEPR w sarkoplazmie włókien mięśniowych, przy czym ekspresja LEP i LEPR nakładała się w sarkolemie. Należy zaznaczyć, że jest to pierwsze badanie analizujące transkryptom mięśniówki podskórnej w HD, co poszerza wiedzę o obwodowych aspektach tej choroby. Zastosowanie zaawansowanych narzędzi (GSEA, DAVID) pozwoliło na precyzyjne wyodrębnienie grup genów funkcjonalnie powiązanych z macierzą pozakomórkową, a uwzględnienie analizy ekspresji endogennej huntingtyny pozwoliło wykluczyć wpływ naturalnego genu myszy na uzyskane wyniki, przypisując patologię fragmentowi huntingtyny człowieka. Badanie to ma istotne znaczenie dla zrozumienia systemowego charakteru HD, wykraczającego poza układ nerwowy. Zidentyfikowane zaburzenia mogą tłumaczyć objawy kliniczne u pacjentów (dysfunkcje twarzy), takie jak nieregularne mruganie czy skurcze czoła. Wykazanie obniżenia ekspresji genów ECM otwiera nowe ścieżki badawcze. Dalsze studia nad komponentami macierzy mogą pozwolić na zidentyfikowanie nowych celów terapeutycznych w leczeniu obwodowych objawów HD. Zidentyfikowane zmiany w poziomach białek w mięśniach mogą w przyszłości stać się narzędziem diagnostycznym pomocnym w monitorowaniu postępu choroby i ocenie skuteczności terapii. Obniżona ekspresja elastyny i kolagenu sugeruje, że HD może wpływać na elastyczność skóry i procesy naprawcze tkanek (np. gojenie ran) poszerzając potencjalnie niezidentyfikowany katalog obwodowych objawów HD.

Łącznie, wyniki opisane w trzech eksperymentalnych artykułach naukowych pozwoliły Doktorantce odpowiedzieć na postawione pytania badawcze. W dyskusji Kandydatka każdorazowo konfrontuje uzyskane wyniki z doniesieniami literaturowymi innych grup badawczych wskazując na częściową zgodność oraz rozbieżności z danymi literaturowymi, w szczególności w odniesieniu do wyników uzyskiwanych u ludzi. Wskazuje na ograniczenia modeli zwierzęcych oraz konieczność ostrożnej interpretacji obserwowanych zależności, co świadczy o Jej dojrzałości naukowej. Badania przeprowadzone przez mgr Annę Olechnowicz mają, poza wartością naukową, wartość praktyczną polegającą na możliwości translacji do klinicznych zastosowań. Trafnie sformułowała logiczne i uzasadnione sześć wniosków. Aczkolwiek, stwierdzenie o „identyfikacji nowych, dotychczas niescharakteryzowanych w literaturze szlaków metabolicznych" uważam za przedwczesne bez dodatkowych dowodów empirycznych.

Opis integrujący cykl publikacji ma strukturę zgodną z wymogami określonymi dla tego typu prac w Uniwersytecie Medycznym w Poznaniu. Został on napisany poprawnym językiem z zachowaniem stylu naukowego oraz z prawidłowym doborem terminologii. Aczkolwiek Doktorantka nie uniknęła kilku usterek redakcyjnych. Należą do nich kolokwialne określenia „wcześniejszych badaczy" (s. 20), „Literatura przedmiotu wskazuje na" (s. 23), „jego (genu) obniżoną odporność na stres" (s. 23), czy powtórzenie wyrazu „kontekście" (s. 21, w tym samym wierszu). Cały opis został napisany w formie bezosobowej podkreślającej dystans i obiektywizm, typowej dla tekstów naukowych, lecz w podsumowaniu doktorantka użyła orzeczenia czasownikowego w 1. osobie liczby mnogiej („Wykazaliśmy…", s. 29) co zaburza spójność narracji. W mojej ocenie, rozprawa mgr Anny Olechnowicz nie zawiera błędów wpływających na wartość pracy, którą oceniam bardzo dobrze.

Po zapoznaniu się z rozprawą doktorską pt. „Analiza transkryptomiczna wybranych narządów myszy w zwierzęcym modelu choroby Huntingtona", stanowiącą podstawę ubiegania się przez Panią mgr Annę Olechnowicz o nadanie stopnia doktora w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu, w dyscyplinie nauki medyczne, stwierdzam, że rozprawa spełnia wymagania określone w art. 187 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce. Rozprawa prezentuje ogólną wiedzę teoretyczną Kandydatki w dyscyplinie nauki medyczne, potwierdza umiejętność samodzielnego prowadzenia pracy naukowej oraz stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego. Wnoszę o dopuszczenie rozprawy do publicznej obrony.
Z uwagi na wysoką jakość metodologiczną, znaczenie wyników dla rozwoju nauki i ich możliwe praktyczne zastosowanie, oraz bardzo duży dorobek publikacyjny Pani mgr Anny Olechnowicz wnoszę do Kapituły Kolegium Nauk Medycznych UM w Poznaniu również o wyróżnienie Jej rozprawy doktorskiej.

PODPIS ZAUFANY
MARCIN TOMASZ
SCHMIDT
30.06.2026 11:43:00 GMT+0200
Dokument podpisany elektronicznie
podpisem zaufanym