

UNIwersytet Medyczny w Białymstoku
KATEDRA BIOSTRUKTURY
ZAKŁAD PATOMORFOLOGII LEKARSKIEJ

KIEROWNIK: DR HAB. N. MED. JOANNA RESZEĆ- GIEŁAŻYN
15-269 Białystok ul. Waszyngtona 13, tel.: 85 748 5911, 5945 e-mail: patomorfologia.lekarska@umb.edu.pl

Białystok, 14.05.20206

Recenzja Rozprawy Doktorskiej

mgr Agaty Hańko

**pt.: „Analiza zaburzeń ekspresji wybranych mikroRNA w
chorobie Alzheimera”**

Promotor: Prof. dr hab. n. med. Izabela Zawlik

Promotor pomocniczy: Dr n. med. Natalia Potocka

Rozprawa na stopień doktora w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu,
w dyscyplinie nauki medyczne.

Choroba Alzheimera ang. Alzheimer's disease (AD), jest postępującą i nieodwracalną chorobą neurodegeneracyjną, której objawy pojawiają się zwykle w średnim lub późnym wieku. Charakteryzuje się głębokim zaburzeniem funkcji poznawczych oraz szeregiem zaburzeń behawioralnych, psychologicznych, motorycznych oraz zaburzeń nastroju. Demencja od stanu łagodnego przechodzi do ciężkiej postaci choroby, w której osoba staje się całkowicie zależna od innych w zakresie podstawowych czynności życiowych. Biorąc pod uwagę utrzymującą się tendencję wzrostową liczby pacjentów chorych na AD w Polsce oraz na świecie a także trudności w zakresie ochrony zdrowia związane z diagnostyką, leczeniem oraz refundacją opieki

UNIwersytet Medyczny w Białymstoku
KATEDRA BIOSTRUKTURY
ZAKŁAD PATOMORFOLOGII LEKARSKIEJ

KIEROWNIK: DR HAB. N. MED. JOANNA RESZEĆ- GIEŁAŻYN

15-269 Białystok ul. Waszyngtona 13, tel.: 85 748 5911, 5945 e-mail: patomorfologia.lekarska@umb.edu.pl

specjalistycznej dla chorych na AD, podjęty przez Doktorantkę temat jest bardzo aktualny jak i istotny klinicznie. Tematyka rozprawy wpisuje się w aktualne. potrzeby i trendy w neurologii. Poszukiwanie zmian na poziomie molekularnym niewątpliwie stanowi próbę rozwiązania klinicznie istotnego zagadnienia jakim jest nowoczesna diagnostyka choroby Alzheimera.

Choroba Alzheimera pod kątem wpływu czynników genetycznych na pojawienie się oraz rozwój objawów wydaje się być niejednorodna. Rodzinna postać tej choroby, charakteryzująca się wczesnym początkiem ma podłoże genetyczne i dziedziczona jest autosomalnie dominująco. Mutacja w genach PSEN1 i PSEN2 jest najczęstszą przyczyną rodzinnej choroby Alzheimera ang. Familial Alzheimer's disease (FAD). Pomimo licznych genów ryzyka zidentyfikowanych w badaniach asocjacyjnych całego genomu, same czynniki genetyczne nie mogą wyjaśnić późnego wystąpienia AD. Ciekawym wydaje się fakt, że zmienność genetyczna specyficzna dla populacji w obrębie genu APOE może mieć większy wpływ niż ogólna zmienność genetyczna w genomie. Ponadto wykazano, że polimorfizmu insercyjno-delecyjnego (indel) w genie ACE został więc uznany za kandydata na predyktora podatności na AD.

Wykazanie podłoża genetycznego choroby nie jest rutynową diagnostyką u pacjentów podejrzewanych o chorobę Alzheimera. Badania markerów krwi dają obiecujące wyniki w diagnozowaniu AD, jednak problem wczesnej diagnozy nadal istnieje. Postęp w badaniach nad biomarkerami i terapiami choroby Alzheimera jest widoczny, jednak nadal brakuje skutecznej i dostępnej metody wczesnego jej wykrywania oraz leczenia. Najbardziej użyteczne biomarkery to te, które uczestniczą w wielu procesach regulacyjnych w mózgu oraz sygnalizacji neuropatologicznej. Mogą one wskazywać na chorobę Alzheimera jeszcze przed wystąpieniem jakichkolwiek zmian neuropatologicznych.

UNIwersytet Medyczny w Białymstoku
KATEDRA BIOSTRUKTURY
ZAKŁAD PATOMORFOLOGII LEKARSKIEJ

KIEROWNIK: DR HAB. N. MED. JOANNA RESZEĆ- GIEŁAŻYN
15-269 Białystok ul. Waszyngtona 13, tel.: 85 748 5911, 5945 e-mail: patomorfologia.lekarska@umb.edu.pl

MikroRNA (miRNA, miR) to potencjalne biomarkery, które mogą odzwierciedlać zmiany homeostazy komórkowej i wskazywać na obecność wielu patologii. Poziomy miRNA mogą się różnić u pacjentów na różnych etapach choroby Alzheimer. Co istotne, miRNA można izolować z krwi lub innych płynów ustrojowych, co czyni ich wykorzystanie mniej inwazyjnym i mniej kosztownym w porównaniu do biomarkerów wymagających pobrania płynu mózgowo-rdzeniowego. Dzięki temu miRNA mogą stanowić przełom w ultrawczesnej diagnostyce choroby Alzheimer.

Mając na względzie rozwój narzędzi współczesnej medycyny, trud tematu choroby Alzheimer a także rozumiejąc ogromny potencjał miRNA jako molekularnych biomarkerów diagnostycznych i prognostycznych mgr Agata Haško w swojej pracy doktorskiej kompetentnie połączyła te zagadnienia w dobrze opracowany temat badawczy.

Celem pracy doktorskiej mgr Agaty Haško było zbadanie zaburzeń ekspresji wybranych miRNA, w zależności od stadium choroby Alzheimer oraz związku pomiędzy ekspresją miRNA a polimorfizmami w genach APOE oraz ACE.

Doktorantka zaplanowała badania stawiając za cel weryfikację trzech hipotez badawczych:

1. Profil ekspresji krążących miRNA (miRNA-200a-3p, miRNA-146a-5p, miRNA-132-3p) różni się u pacjentów w zależności od stadium zaawansowania choroby Alzheimer.
2. Obecność allelu $\epsilon 4$ w genie APOE wpływa na ekspresję krążących miRNA.
3. Obecność allelu insercyjnego (I) w genie ACE wpływa na ekspresję krążących miRNA.

UNIwersytet Medyczny w Białymstoku
KATEDRA BIOSTRUKTURY
ZAKŁAD PATOMORFOLOGII LEKARSKIEJ

KIEROWNIK: DR HAB. N. MED. JOANNA RESZEĆ- GIEŁAŻYN
15-269 Białystok ul. Waszyngtona 13, tel.: 85 748 5911, 5945 e-mail: patomorfologia.lekarska@umb.edu.pl

Rozprawa liczy 156 stron i została przygotowana w klasycznym formacie rozprawy doktorskiej opartej na badaniach własnych. Praca obejmuje wstęp, cele pracy, materiał i metody, omówienie wyników przedstawionych w publikacjach, wnioski oraz piśmiennictwo.

Obszerny wstęp rozprawy dotyczący choroby Alzheimera wskazuje na znaczące przygotowanie merytoryczne Doktorantki do przeprowadzenia części badawczej rozprawy. W pracy zwraca uwagę dobrze dobrany zakres metodyczny, który wykazał zasadność postawionych tez badawczych i pozwolił na udowodnienie hipotez. Jedyne co zwróciło moją uwagę brak informacji o standaryzacji procesu biobankowania krwi pobieranej od pacjentów zakwalifikowanych jako grupa badana i grupa kontrolna.

Doktorantka uzyskała zgodę Komisji Bioetycznej przy Okręgowej Izbie Lekarskiej w Rzeszowie, 35-030 Rzeszów, ul. Dekerta 2 na mocy Uchwały Nr 59/B/2015 oraz Aneksu K/B/8/D/2025 na wykonanie zaplanowanego badania.

Nie ma wątpliwości co do wkładu włożonego w pracę badawczą Doktorantki, który był wystarczający i samodzielny, pod czujną opieką Promotora i Promotora pomocniczego.

W dyskusji mgr Agata Haśko oceniła i porównała swoje wyniki z danymi literaturowymi w sposób prawidłowy i logiczny. Przedstawione w rozprawie wyniki badań pozwoliły na sformułowanie jedenastu konstruktywnych i dobrze wyciągniętych wniosków.

W mojej opinii uzyskane wyniki mają potencjał wdrożeniowy i stanowią punkt wyjścia do dalszych badań. Szczególnie mocne strony rozprawy to m.in.:

1. Wybór tematu o wysokiej istotności klinicznej i globalnym znaczeniu.
2. Solidna metodologia i innowacyjne wykorzystanie materiału biologicznego

UNIwersytet Medyczny w Białymstoku
KATEDRA BIOSTRUKTURY
ZAKŁAD PATOMORFOLOGII LEKARSKIEJ

KIEROWNIK: DR HAB. N. MED. JOANNA RESZEĆ- GIEŁAŻYN

15-269 Białystok ul. Waszyngtona 13, tel.: 85 748 5911, 5945 e-mail: patomorfologia.lekarska@umb.edu.pl

3. Przemyślana interpretacja wyników i opracowanie wartościowych wniosków
4. Skuteczna integracja wyników z aktualną literaturą i wytycznymi klinicznymi.

W całej rozprawie doktorskiej zacytowano 209 pozycji piśmiennictwa. Piśmiennictwo jest nowoczesne, anglojęzyczne zawierające najważniejsze pozycje dotyczące przedstawionego zagadnienia, które zostało zacytowane we właściwym miejscu.

Założone w pracy doktorskiej cele, zostały osiągnięte w ramach przeprowadzonych działań badawczych, których wyniki wraz z opisem materiału oraz metodami zostały opisane w niniejszej rozprawie doktorskiej.

Podsumowując, Doktorantka wykazała się bardzo dobrą znajomością tematu, umiejętnością interpretacji złożonych wyników i formułowania klinicznie istotnych wniosków. Oceniana rozprawa jest spójna, jasno skonstruowana

i napisana przystępnym stylem akademickim. Agata Haśko konsekwentnie stosuje właściwą terminologię medyczną i spełnia wszystkie wymagania formalne stawiane rozprawom doktorskim. Jej znaczący udział w planowaniu, realizacji i publikacji wszystkich badań potwierdza główne autorstwo i jej wiodącą rolę.

Rozprawa doktorska mgr Agaty Haśko pt.: „Analiza zaburzeń ekspresji wybranych mikroRNA w chorobie Alzheimera” spełnia wszystkie wymogi formalne i merytoryczne określone w *art. 187 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. — Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (f.y. Dz.U. z 2024r. poz. 1571)* na stopień doktora w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki medyczne.

UNIwersytet Medyczny w Białymstoku
K A T E D R A B I O S T R U K T U R Y
ZAKŁAD PATOMORFOLOGII LEKARSKIEJ

KIEROWNIK: DR HAB. N. MED. JOANNA RESZEĆ- GIEŁAŻYN
15-269 Białystok ul. Waszyngtona 13, tel.: 85 748 5911, 5945 e-mail: patomorfologia.lekarska@umb.edu.pl

Należy podkreślić, że całe badanie zostało zaplanowane, wykonane i opisane na bardzo dobrym poziomie naukowym i niewątpliwie stanowi próbę rozwiązania oryginalnego choć trudnego i klinicznie ważnego zagadnienia naukowego związanego z potencjałem cząsteczek microRNA w chorobie Alzheimerera. Praca ta stanowi oryginalne i znaczące osiągnięcie naukowe, które wnosi istotny wkład w rozwój wiedzy klinicznej w neurologii.

W związku z powyższym mam zaszczyt przedłożyć Wysokiemu Senatowi Uniwersytetu Rzeszowskiego Collegium Medicum Wydziału Medycznego wniosek o dopuszczenie Pani Agaty Haśko do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

- - -