

Katedra Diagnostyki Laboratoryjnej i Molekularnej
Zakład Biochemii Farmaceutycznej i Diagnostyki Molekularnej
Laboratorium Diagnostyki Molekularnej
Zespół Laboratoriów BRAIN
tel/fax: +48 42 677-91-30

prof. dr hab. Ewa Balcerczak

Łódź, 20 kwietnia 2026 r.

Ocena rozprawy doktorskiej

mgr Agaty Haško

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

przedstawionej w celu uzyskania stopnia doktora w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu, w dyscyplinie nauki medyczne

Recenzję przygotowano na podstawie uchwały Rady Dyscypliny Collegium Medicum Uniwersytetu Rzeszowskiego oraz przekazanych materiałów.

Praca została wykonana w Laboratorium Biologii Molekularnej, Przyrodniczo Medycznego Centrum Badań Innowacyjnych, Kolegium Nauk Medycznych, Uniwersytetu Rzeszowskiego, pod kierunkiem Pani profesor dr hab. n.med. Izabeli Zawlik oraz Pani dr n.med. Natalii Potockiej.

Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska mgr Agaty Haško, licząca 157 stron, stanowi opracowanie oryginalne, dotyczące analizy zaburzeń ekspresji wybranych mikroRNA w chorobie Alzheimera (AD), jednej z najistotniejszych chorób neurodegeneracyjnych współczesnej medycyny. Tematyka pracy wpisuje się w aktualny nurt badań nad molekularnymi mechanizmami patogenezy AD oraz poszukiwaniem biomarkerów diagnostycznych i prognostycznych.

Rozprawa ma klasyczną strukturę pracy doktorskiej i obejmuje: wstęp, założenia i cel pracy, materiały i metody, wyniki, dyskusję oraz wnioski. Zakres pracy obejmuje analizę ekspresji mikroRNA (m.in. miR-146a-5p, miR-200a-3p, miR-132-3p), ocenę ich związku z parametrami klinicznymi oraz analizę zależności z polimorfizmami genów *APOE* i *ACE*.

Choroba Alzheimera stanowi poważny problem kliniczny i społeczny, odpowiadając za około 70% przypadków otępienia na świecie. Pomimo intensywnych badań, jej patogeneza nie została w pełni poznana, a dostępne metody diagnostyczne nadal wymagają uzupełnienia o nowe biomarkery

molekularne. W tym kontekście szczególnego znaczenia nabierają mikroRNA, które pełnią kluczową rolę w regulacji ekspresji genów i mogą stanowić obiecujące narzędzie diagnostyczne. Podjęty przez Doktorantkę temat jest zatem aktualny, istotny klinicznie oraz naukowo uzasadniony.

Wstęp pracy, obejmujący 33 strony, stanowi obszerne i dobrze uporządkowane opracowanie dotyczące etiologii i patogenezy choroby Alzheimera, w tym hipotezy amyloidowej oraz tau, a także roli mikroRNA w regulacji ekspresji genów. Doktorantka wykazała się dobrą znajomością aktualnego piśmiennictwa, które obejmuje 209 pozycji. Na szczególne podkreślenie zasługuje logiczne powiązanie:

- mechanizmów neurodegeneracji,
- procesów zapalnych,
- regulacji epigenetycznej przez mikroRNA.

Pewnym niedostatkiem jest stosunkowo ograniczone odniesienie do potencjalnych zastosowań klinicznych analizowanych mikroRNA w praktyce diagnostycznej.

Postawiony przez Doktorantkę cel główny pracy, jakim była analiza zaburzeń ekspresji wybranych mikroRNA w chorobie Alzheimera oraz ocena ich potencjalnego znaczenia diagnostycznego i patogenetycznego, został zrealizowany w sposób kompleksowy, wieloetapowy i metodycznie poprawny. Realizacja celu głównego została rozbita na szereg celów szczegółowych, które obejmowały zarówno aspekt molekularny, jak i kliniczny analizowanego problemu.

Cel pracy został więc zrealizowany poprzez:

- analizę ekspresji miRNA,
- ocenę korelacji z biomarkerami (A β , Tau),
- analizę zależności z polimorfizmami genetycznymi,
- budowę modeli predykcyjnych.

W pierwszym etapie badań Doktorantka dokonała szczegółowej charakterystyki grupy badanej oraz kontrolnej, uwzględniając zmienne demograficzne (wiek, płeć) oraz kliniczne, co stanowiło niezbędną podstawę do dalszych analiz porównawczych. Na przeprowadzenie badania została uzyskana Zgoda Komisji Bioetycznej Okręgowej Izby Lekarskiej (Uchwała Nr 59/B/2015 z aneksem z dnia 21.05.2025). Kolejnym istotnym elementem realizacji pracy była ocena klasycznych biomarkerów choroby Alzheimera, w tym stężenia białek β -amyloidowych oraz białka Tau w zależności od stadium zaawansowania choroby. Umożliwiło to odniesienie uzyskanych wyników molekularnych do dobrze ugruntowanych wskaźników neurodegeneracji oraz zwiększyło wartość poznawczą przeprowadzonych analiz. W dalszym etapie badań Doktorantka przeprowadziła analizę polimorfizmów genetycznych w obrębie genów *APOE* oraz *ACE*, które należą do najistotniejszych czynników genetycznych związanych z ryzykiem rozwoju choroby Alzheimera. Uwzględnienie komponenty genetycznej w projekcie

badawczym należy uznać za szczególnie wartościowe, gdyż pozwala ono na wielowymiarową interpretację wyników oraz ich osadzenie w kontekście indywidualnej podatności na chorobę. Kluczowym elementem realizacji pracy była ilościowa analiza ekspresji wybranych mikroRNA (miR-146a-5p, miR-200a-3p, miR-132-3p) z wykorzystaniem techniki RT-qPCR. Dobór analizowanych cząsteczek był uzasadniony ich potencjalnym udziałem w procesach neurozapalnych, regulacji odpowiedzi immunologicznej oraz funkcjonowaniu neuronów. Doktorantka przeprowadziła analizę ekspresji miRNA w odniesieniu do: stadium zaawansowania choroby, wieku i płci pacjentów, parametrów biochemicznych, wskaźników diagnostycznych, obecności określonych wariantów genetycznych.

Tak szerokie podejście analityczne świadczy o dojrzałości naukowej Doktorantki oraz umożliwia wieloaspektową interpretację uzyskanych wyników.

Na szczególne podkreślenie zasługuje przeprowadzenie analiz korelacyjnych pomiędzy ekspresją mikroRNA a klasycznymi biomarkerami choroby Alzheimera, co pozwoliło na identyfikację potencjalnych zależności pomiędzy regulacją epigenetyczną a procesami neurodegeneracyjnymi. Dodatkowo, Doktorantka podjęła próbę określenia związku pomiędzy profilem ekspresji miRNA a polimorfizmami genów *APOE* i *ACE*, co stanowi nowatorski element pracy i znacząco podnosi jej wartość naukową. Istotnym etapem realizacji celów było również opracowanie modeli predykcyjnych zaburzeń otępiennych, które integrują dane molekularne i kliniczne. Takie podejście wpisuje się w aktualne trendy medycyny spersonalizowanej i wskazuje na potencjalne zastosowanie uzyskanych wyników w praktyce diagnostycznej.

W niniejszej pracy Doktorantka przedstawiła spójny i logicznie uporządkowany plan badawczy, obejmujący zarówno aspekty eksperymentalne, jak i analityczne.

Na podkreślenie zasługuje fakt, iż przyjęta koncepcja metodologiczna uwzględnia wielopoziomowy charakter analizowanego problemu – od poziomu mikro RNA, poprzez analizę wariantów genetycznych, aż po odniesienie uzyskanych wyników do parametrów klinicznych. Takie podejście wpisuje się w aktualne standardy badań translacyjnych oraz zwiększa potencjał aplikacyjny uzyskanych wyników.

Zastosowane techniki biologii molekularnej, w tym analiza ekspresji mikroRNA z wykorzystaniem RT-qPCR, oznaczenia biomarkerów metodą ELISA oraz analiza polimorfizmów genetycznych, stanowią ugruntowane i powszechnie akceptowane narzędzia badawcze w tego typu analizach. Istotnym elementem metodologii jest również zastosowanie odpowiednich testów statystycznych, umożliwiających rzetelną ocenę zależności pomiędzy badanymi zmiennymi.

Dobór metod należy uznać za prawidłowy i adekwatny do postawionych celów badawczych. Pewnym ograniczeniem metodologicznym jest jedynie brak walidacji uzyskanych wyników w

niezależnej kohorcie badawczej. W kontekście badań o potencjalnym znaczeniu diagnostycznym, potwierdzenie obserwacji w odrębnej grupie pacjentów stanowi istotny element zwiększający wiarygodność i translacyjność wyników.

Uzyskane przez Doktorantkę wyniki stanowią istotny wkład w poznanie molekularnych mechanizmów związanych z patogenezą choroby Alzheimera, w szczególności w kontekście regulacyjnej roli mikroRNA. Uzyskane wyniki wskazują na:

- istotne zmiany ekspresji analizowanych mikroRNA w zależności od stadium choroby,
- zależności pomiędzy miRNA a biomarkerami neurodegeneracji,
- potencjalne znaczenie miRNA jako markerów diagnostycznych.

Dyskusja wyników została przeprowadzona poprawnie, z odniesieniem do aktualnych doniesień naukowych. Interpretacja wyników jest logiczna i spójna.

Podsumowując, należy stwierdzić, że cele pracy zostały zrealizowane w sposób pełny i konsekwentny. Doktorantka zastosowała nowoczesne metody badawcze, przeprowadziła wielopoziomową analizę danych oraz uzyskała wyniki o istotnym znaczeniu poznawczym. Realizacja pracy świadczy o wysokim poziomie kompetencji badawczych oraz umiejętności integracji danych z różnych poziomów przepływu informacji biologicznej. Do pracy dołączono spis 21 tabel i 20 wykresów.

Po przeczytaniu pracy, nasuwają się następujące uwagi i pytania:

1. Należałoby rozszerzyć dyskusję dotyczącą możliwości translacji wyników do praktyki klinicznej.
2. W pracy można było szerzej omówić ograniczenia badań, w szczególności dotyczące liczebności grupy badanej.
3. Interesującym rozwinięciem byłaby analiza funkcjonalna badanych, czy jest ona planowana? Warto również rozważyć rozszerzenie analiz o bardziej zaawansowane podejścia bioinformatyczne, takie jak analiza sieci regulacyjnych miRNA–mRNA lub integracja danych z publicznymi bazami transkryptomicznymi, co mogłoby pogłębić interpretację uzyskanych wyników oraz wskazać potencjalne szlaki molekularne zaangażowane w patogenezę choroby.

Podkreślić jednak należy, że powyższe uwagi nie obniżają wartości naukowej pracy, a raczej wskazują kierunki dalszych badań i potencjalnego rozwinięcia uzyskanych wyników.

Podsumowując rozprawa doktorska mgr Agaty Hańko stanowi wartościowe i oryginalne opracowanie naukowe, wpisujące się w aktualne kierunki badań nad molekularnymi podstawami choroby Alzheimera. Praca została przygotowana w sposób właściwy i oceniam ją bardzo wysoko.

Doktorantka wykazała się: bardzo dobrą znajomością tematyki, umiejętnością planowania i realizacji badań oraz właściwej interpretacji wyników.

Stwierdzam zatem, że rozprawa doktorska mgr Agaty Hańko spełnia warunki określone w art.187 ust 1 i 2 ustawy z dnia 20.lipca 2018 roku Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2018 r., poz. 1668 ze zm.). W związku z powyższym wnoszę o dopuszczenie mgr Agaty Hańko do dalszych etapów postępowania doktorskiego.

Wnioskuje również do Rady Dyscypliny Collegium Medicum Uniwersytetu Rzeszowskiego o wyróżnienie rozprawy doktorskiej Pani Magister Agaty Hańko stosowną nagrodą ze względu na wysoką wartość naukową uzyskanych wyników jak i możliwość ich potencjalnego wykorzystania klinicznego.

z poważaniem

prof. dr hab. n. farm. Ewa Balcerczak