

**Recenzja rozprawy doktorskiej
Pani mgr Eweliny Jesion
pt. „Wpływ poziomu białka CYP46A1 w mózgu mysiego modelu Ki150 w
kontekście roli metabolizmu cholesterolu w patogenezie ataksji rdzeniowo-
mózdkowej typu 3”**

Rozprawa doktorska Pani mgr Eweliny Jesion została przedstawiona w postaci tradycyjnej dysertacji, opisującej badania wykonane w celu rozwiązania problemu roli białka CYP46A1 w patomechanizmie ataksji rdzeniowo-mózdkowej typu 3. Ta choroba o podłożu genetycznym spowodowana jest bezpośrednio mutacją w genie *ATXN3*, kodującym ataksynę 3, polegającą na ekspansji trójek nukleotydowych CAG, w wyniku czego w białkowej produkcji genu dochodzi do zwielokrotnienia reszt glutaminy. Co prawda jest to pierwotna zmiana warunkująca tę chorobę, jednak pojawienie się zmienionego białka nie jest jedynym jej molekularnym mechanizmem, ze względu na możliwość jego modulacji przez inne czynniki. Jednym z nich jest 24-hydrolaza cholesterolu, białko CYP46A1, którego zmiany aktywności mogą powodować nieprawidłowości w poziomie cholesterolu w mózgu, wpływając na mechanizm i przebieg choroby. Głównym celem pracy doktorskiej Pani mgr Eweliny Jesion było zbadanie mechanizmu wpływu zmian w poziomie CYP46A1 na przebieg badanej choroby z wykorzystaniem jej mysiego modelu, zwanego Ki150. Taki cel pracy jest niewątpliwie ważny naukowo jak i ambitny. Badania przeprowadzone zostały w Instytucie Chemii Bioorganicznej Polskiej Akademii Nauk, pod kierunkiem

Pana dr hab. Macieja Figła, prof. IChB PAN (promotora) oraz Pani dr inż. Magdaleny Surdyki (promotor pomocniczej). Zespół badawczy kierowany przez Pana prof. Figła ma duże doświadczenie i znaczące osiągnięcia związane z pracami naukowymi nad chorobami poliglutaminowymi, wzmocnione długą tradycją takich badań prowadzonych w wyżej wymienionym instytucie. Warunki do przeprowadzenia prac naukowych w tym temacie były zatem znakomite.

Opisane w rozprawie doktorskiej badania Pani mgr Eweliny Jesion były nie tylko bardzo ciekawe, ale przyniosły zaskakujące wyniki. Używając mysiego modelu choroby, Doktorantka potwierdziła, że podobnie jak u pacjentów cierpiących na ataksję rdzeniowo-mózdkową typu 3, także u myszy Ki150 występuje obniżenie poziomu białka CYP46A1 w mózdku. Postawiona została zatem hipoteza, że dalsze obniżenie ekspresji genu kodującego to białko, z wykorzystaniem wektorów wirusowych oraz shRNA, może spowodować dalsze nasilenie stanu chorobowego i objawów u myszy. Zaskakujące były zatem obserwacje, że warunki takie spowodowały poprawę, a nie pogorszenie, fenotypu myszy (m.in. poprawa sprawności ruchowej zwierząt) i złagodzenie zaburzeń neurodegeneracyjnych. To niespodziewane odkrycie wskazuje, jak wiele brakuje nam jeszcze do pełnego zrozumienia mechanizmów chorób o podłożu genetycznym, nawet tych, które spowodowane są dobrze zdefiniowanymi mutacjami w obrębie jednego genu. Modulacje ekspresji innych genów mogą bowiem znacząco zmieniać fenotyp dotkniętego defektem genetycznym organizmu i to w kierunku, który wydawać by się mógł zaskakujący. Autorka dogłębnie dyskutuje w pracy możliwe przyczyny uzyskanych wyników, które były sprzeczne z pierwotnymi założeniami. Przedstawia hipotezę, że poprawa fenotypu myszy Ki150 z wyciszoną ekspresją genu kodującego białko CYP46A1 może być spowodowana aktywacją mechanizmów kompensujących, co prowadzi do zwiększenia przeżywalności neuronów. Jakkolwiek hipoteza ta jest prawdopodobna, bo wymaga oczywiście dalszych badań w celu jej dokładnego przetestowania. W ramach dyskusji chciałbym zatem zapytać Doktorantkę o potencjalne sposoby testowania tej hipotezy.

Podsumowując ocenę merytoryczną rozprawy doktorskiej Pani mgr Eweliny Jesion stwierdzam, że Doktorantka podjęła się rozwiązania bardzo ciekawego problemu naukowego. Przeprowadziła badania, które doprowadziły do niespodziewanych, wręcz intrygujących wyników, które wskazały na dotychczas nieznane mechanizmy związane z przebiegiem ataksji rdzeniowo-mózdkowej typu 3. Nie mam wątpliwości, że należy to uznać jako rozwiązanie problemu naukowego. Badania zostały prawidłowo zaplanowane, eksperymenty bardzo precyzyjnie wykonane, a wyniki poprawnie zinterpretowane. Doktorantka wykazała zatem umiejętności prowadzenia badań naukowych. Lektura rozdziału pt. „Wstęp” nie pozostawia także wątpliwości o bardzo dobrej teoretycznej znajomości przez Doktorantkę zagadnień związanych z jej pracą. Stwierdzam zatem spełnienie merytorycznych wymogów przewidzianych w stosunku do kandydatów ubiegających się o stopień doktora.

Mniej entuzjastyczna od oceny merytorycznej rozprawy doktorskiej Pani mgr Eweliny Jesion jest moja opinia dotycząca strony redakcyjnej ocenianej pracy. Co prawda nie umniejsza to bezpośrednio wartości naukowej pracy, jednak wskazane jest unikanie wymienionych poniżej mankamentów w przyszłych tekstach naukowych przygotowywanych przez Doktorantkę. Przedstawię zatem po kolei zauważone przeze mnie problemy natury edytorskiej.

1. Tytuł pracy nie jest jasny. Zgodnie ze słownikiem języka polskiego, słowo „wpływ” oznacza oddziaływanie czegoś na coś albo na kogoś (<https://sjp.pwn.pl/slowniki/wpływ.html>). Czytając tytuł wiemy, że chodzi o wpływ poziomu białka CYP46A, ale nie jest określone na co/kogo ma to wpływać. Określenie „Wpływ poziomu białka (...) w kontekście (...) w patogenezie (...)” uważam zatem za błąd logiczny.
2. Tytuł pracy zakończony jest kropką. Zgodnie ze słownikiem języka polskiego, po nagłówkach i tytułach nie stawia się kropki



- (<https://sjp.pwn.pl/poradnia/haslo/kropka-w-naglowkach-i-tytulach;10736.html>). Jest to zatem błąd interpunkcyjny.
3. Zgodnie z zasadami nomenklatury genetycznej, nazwy genów ludzkich powinny być pisane kursywą, czyli np. *ATXN3*, zamiast ATXN3. Ta druga pisownia oznacza bowiem produkt genu, czyli w tym przypadku białko. W ocenianej pracy, nazwy genów i białek są przemieszane, a najczęstszym błędem jest pisownia nazwy genu zwykłą czcionką (np. str. 16 i dalsze).
 4. Na stronie 18 czytamy: „Ataksyna-3 jest białkiem o wadze około 42kDa...” (podkreślenie recenzenta). Mówimy raczej o masie (cząsteczkowej) białka, a nie o „wadze” białka.
 5. Na stronie 26 czytamy: „... pozwala uzyskać neurony z komórek fibroblastów...” (podkreślenie recenzenta). Same fibroblasty są komórkami, zatem określenie „komórek fibroblastów” jest pleonazmem.
 6. Na stronie 27 znajduje się określenie: „ekspresja zmutowanego białka”. Ekspresji ulegają geny, a białka są produktami ekspresji genów. Mutacje są zmianami w sekwencji nukleotydowej genów, a nie białek. Zatem w powyższym określeniu obecne są dwa błędy nomenklaturowe, które można określić jako wynik tzw. żargonu laboratoryjnego.
 7. Cele pracy są zasadniczo ciekawie określone, ale w dwóch z nich (oznaczonych jako Cel 1 i Cel 2) znajdują się stwierdzenia, że były nimi „odkrycie warunków transdukcji...” i „odkrycie czy obniżenie poziomu białka...”. Takie określenia nie są poprawne i nie są zgodne z metodyką badań biologicznych. Skoro prace naukowe polegają na badaniu wcześniej nieznanymi zjawisk, procesów czy mechanizmów, to przecież nie można zaplanować odkrycia czegoś, czego jeszcze nie znamy. Można zaplanować zbadanie czegoś (tak jak to jest określone w opisach Celu 3 i Celu 4), ale nie można zaplanować, że coś się odkryje.





8. Większość legend do rycin zawiera tytuł danej ryciny, a następnie jej opis. Natomiast legenda do Rysunku 4 rozpoczyna się od opisu anatomii mózdzku, bez żadnego tytułu ryciny, wskazującego co ona ogólnie przedstawia. Zdecydowanie nie ułatwia to jej analizy.
9. Na stronie 48 czytamy: „Naszym głównym celem było...”. Naszym, czyli czyim? Ta rozprawa doktorska ma jedną autorkę. Oczywiście, praca doktorska wykonywana jest pod opieką promotora (a w tym przypadku również promotora pomocniczego), niemniej ocenie podlega efekt działalności naukowej Doktorantki, zatem w pracy powinna Ona stosować określenia w pierwszej osobie liczby pojedynczej.
10. Na stronie 48, w następnym zdaniu czytamy: „Komórki te **eksprymują enzym** CYP36A1, **którego obniżenie** z pomocą...” (podkreślenia recenzenta). Jak wskazałem w punkcie 6, ekspresji ulegają geny a nie białka. Ponadto co ma oznaczać „obniżenie enzymu”? Autorce : apewne chodziło o obniżenie **poziomu, stężenia** albo **aktywności** enzymu (nie sprecyzowała tego jednak), a nie na przykład obniżenie położenia preparatu enzymu (z górnej półki w lodówce na dolną, albo coś w tym rodzaju). Pozwoliłem sobie w tym miejscu na dość humorystyczne porównanie, ale pamiętać należy iż język naukowy powinien być bardzo precyzyjny, tak aby stosowane określenia mogły być zawsze zrozumiane jednoznacznie, bez konieczności domyślania się „co autor/ka chciał/a powiedzieć”. Tego samego typu problemy występują też w tekście na stronie 90.
11. Wspomniana powyżej w punktach 9 i 10 strona 48 jest w ogólnie niefortunna od strony redakcyjnej, gdyż oprócz wspomnianych powyżej błędów i niejasności znajdują się na niej liczne błędy literowe.
12. Na stronie 57 i dalej w tekście spotykamy określenie „lobule”, które oznaczają płaty mózdzku. Słowo „lobule” jest bezpośrednio zaczerpnięte z





- języka angielskiego, jednak rozprawa doktorska jest napisana w języku polskim, zatem powinno się stosować istniejące polskie określenia.
13. Na stronie 70 czytamy: „Wynik eksperymentu nie uzyskał wartości statystycznie istotnych...”. Nie bada się istotności statystycznej wyników eksperymentów, ale to, czy różnice w uzyskanych w doświadczeniach wartościach mierzonych parametrów dla porównywanych ze sobą grup są statystycznie istotne. Ponownie zwracam uwagę na konieczność używania precyzyjnego języka w pracach naukowych.
14. Na stronie 95, wniosek oznaczony nr 1 jest niejasny. Co oznacza: „Ustalono wydajności i rodzaju populacji komórek...”? Czegoś w tym zdaniu zabrakło...
15. Na stronie 95, w ramach wniosku oznaczanego nr 3 Doktorantka pisze o poprawie motoryki myszy typu dzikiego po eksperymentalnym obniżeniu u nich poziomu białka CYP46A1. Czy na pewno możemy mówić o „**poprawie** motoryki” u tych myszy? Przecież parametry oznaczone u zwierząt kontrolnych uznajemy za normę. Oczywiście możemy doprowadzić do zwiększenia parametrów motoryki u myszy, ale czy można to nazwać poprawą? Czy poprawą nazwalibyśmy na przykład istotne zwiększenie wartości ciśnienia tętniczego krwi u zwierzęcia albo człowieka? Ten parametr można rzecz jasna podwyższyć, ale czy będzie to poprawa? Według słownika języka polskiego, poprawa oznacza „zmianę stanu czegoś na lepsze” (<https://sjp.pwn.pl/sjp/poprawa;2505004.html>). Ale większe nie zawsze znaczy lepsze. Zwiększona motoryka może przecież wskazywać na nadaktywność, czyli stan patologiczny, a nie na poprawę stanu organizmu.

Podkreślam raz jeszcze, że wskazane powyżej niedociągnięcia redakcyjne mają na celu zobrazowanie konieczności stosowania bardzo precyzyjnego języka w tekstach naukowych, tak aby praca mogła być przez czytelników jednoznacznie zrozumiana.

W podsumowaniu uważam, że Pani mgr Ewelina Jesion wykazała się wiedzą teoretyczną z zakresu prowadzonych przez siebie badań, udowodniła że potrafi prowadzić badania naukowe i rozwiązać problem naukowy oraz wyciągnąć odpowiednie wnioski z wykonanych doświadczeń. Stwierdzam zatem, że przedstawiona mi do recenzji rozprawa doktorska spełnia warunki określone w ustawie z dnia 20 lipca 2018 r. „Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce” (Dz. U. z 2018 r., poz. 1668 z późniejszymi zmianami), ustawie z dnia 3 lipca 2018 r. „Przepisy wprowadzające ustawę – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce” (Dz. U. z 2018 r., poz. 1669 ze późniejszymi zmianami) oraz w uchwale Rady Naukowej Instytutu Chemii Bioorganicznej Polskiej Akademii Nauk nr 128/2022 z dnia 24 października 2022 r. (uchwała określająca sposób postępowania w sprawie nadania stopnia doktora w Instytucie Chemii Bioorganicznej Polskiej Akademii Nauk) i wnioskuję do Rady Naukowej Instytutu Chemii Bioorganicznej Polskiej Akademii o dopuszczenie Pani mgr Eweliny Jesion do dalszych etapów postępowania o nadanie stopnia doktora.



prof. dr hab. Grzegorz Węgrzyn