



Dr hab. n. med. Anna Wójcicka  
Zakład Medycyny Genomowej, Warszawski Uniwersytet Medyczny  
ul. Banacha 1a, 02-097 Warszawa, tel. 22 599 21 89

Warszawa, 11 maja 2020

Ocena pracy doktorskiej magistra Szymona Czauderny pt. „Wpływ polimorfizmu genu apolipoproteiny E na procesy regeneracyjne”

Przedstawiona mi do oceny praca, wykonana w Zakładzie Biotechnologii Medycznej Wydziału Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii Uniwersytetu Jagiellońskiego, dotyczy roli polimorfizmu genu *APOE* w procesach gojenia ran. Praca jest częścią realizowanego w zespole projektu finansowanego przez FNP w ramach POMOST, którego celem jest ocena znaczenia *APOE* w medycynie regeneracyjnej.

Wyniki, które zostały uzyskane i podsumowane w pracy przez Pana mgr. Czaudernę, są rezultatem szeroko zakrojonego projektu badawczego, wymagającego zastosowania szeregu indywidualnie dobranych metod analiz *in silico*, *in vitro* i *in vivo*. Nie ulega wątpliwości, że realizacja projektu wymagała od Doktoranta niebagatelnych nakładów pracy laboratoryjnej.

Przedstawiona mi do oceny praca została zredagowana w sposób raczej typowy; mieści się na 113 stronach, zawiera streszczenie, wstęp, opis materiału i metod, wyniki oraz dyskusję, aczkolwiek brak numeracji rozdziałów i podrozdziałów utrudnia czytanie i łatwe przenoszenie czytelnika do kolejnych etapów opisów czy wnioskowania. Istotne utrudnienie stanowi także brak jasno sformułowanej hipotezy badawczej, którą udaje się odnaleźć dopiero na stronie 81, w części opisującej uzyskane wyniki.

We wstępie Pan mgr Czauderna w sposób wyczerpujący podsumował wiedzę dotyczącą procesów gojenia się ran u człowieka, popartą cytowaniami aktualnej literatury. Cele pracy zostały skonstruowane przejrzysto i znalazły odzwierciedlenie w otrzymanych wynikach. Wykorzystane w projekcie metody zostały opisane bardzo szczegółowo, co udowadnia, jak trudne i czasochłonne było osiągnięcie postawionych w projekcie założeń badawczych. Równocześnie jednak w trakcie czytania narzuca się myśl, że praca byłaby znacznie bardziej czytelna, gdyby wstęp nie był tak rozbudowany i nie omawiał wszystkich etapów procesu gojenia ran, a skupił się na elementach, których jest mało, bądź nie ma ich wcale: na samej funkcji *APOE* oraz na porównaniu procesów gojenia ran u człowieka i u myszy, skoro mysz stanowiła model badawczy w niniejszej pracy. Ułatwiłoby to lepsze zrozumienie przyjętych założeń badawczych i uprościło śledzenie dalszych rozdziałów. Przy tak rozbudowanej części opisowej tym bardziej szkoda, że we wstępie nie znalazło się choć jedno odniesienie do ostatniej Nagrody Nobla

w dziedzinie fizjologii i medycyny (dotyczącej wspomianej w pracy hipoksji) czy o planowanych terapiach genowych związanych z APOE i chorobą Alzheimera. Nie są to jednak oczywiście uwagi wpływające na całościową ocenę pracy.

Chciałabym skorzystać z przywileju recenzentki i prosić Doktoranta o udzielenie odpowiedzi zawarte poniżej pytania, co pozwoli mi lepiej zrozumieć pewne założenia projektu.

1. We wstępie znalazło się sformułowanie, że jedną z charakterystycznych cech ran jest ich niedotlenienie lub hipoksja. Jakie są różnice między niedotlenieniem i hipoksją?
2. Ciekawa jestem źródła danych pokazujących, że pacjenci homozygotyczni wobec allelu APOE4 mają 90% ryzyko rozwinięcia choroby Alzheimera.
3. Cały wstęp pracy dotyczy regulacji procesu gojenia ran u człowieka, podczas gdy wykonane w pracy doświadczenia nie zawierają żadnego materiału pochodzącego od człowieka (monocyty od pacjentów, linia komórkowa wyprowadzona z komórek człowieka) – prośba o komentarz jak podobne są procesy gojenia ran u człowieka i myszy, i jak kształtuje się potencjalna rola APOB w tych procesach
4. Dlaczego zdecydowano się wykonać profilowanie miRNA w mysiej linii komórkowej, na dodatek transformowanej wirusem, nie zaś w monocytach pacjentów z różnymi wariantami APOB? Jaka jest wartość dodana, a jakie zagrożenie takiego podejścia?
5. Prośba o przedstawienie ryciny pokazującej porównanie białek APOE u człowieka i myszy, z opisaniem istotnych domen funkcjonalnych i zaznaczeniem różnic.
6. APOE człowieka i myszy różnią się, podobnie jak ekspresja i sekwencja miRNA – uprzejma prośba o komentarz dlaczego postanowiono, badając wszystko w modelach mysich, zastosować taki a nie inny model komórkowy (z polimorficznym APOB człowieka). Jakie były szanse a jakie zagrożenia takiego rozwiązania.
7. Jakiego organizmu dotyczyła wykonana analiza IPA? Jak wyglądały podobieństwa/różnice w ścieżkach zidentyfikowanych u człowieka i u myszy?
8. Czy według Doktoranta otrzymane w pracy wyniki i wyciągnięte wnioski można przełożyć na procesy zachodzące w organizmie człowieka?

Z góry dziękując za odpowiedzi na powyższe pytania, poniżej zamieszczam kilka uwag dotyczących tekstu pracy. Uwagi te nie wymagają one komentarza i nie ma potrzeby odczytywania ich w trakcie publicznej obrony.

We wstępie pracy znajduje się szereg nieprawidłowych bądź niezręcznych sformułowań, wynikających prawdopodobnie z bezpośredniego tłumaczenia z języka angielskiego. Rozumiem oczywiście że rzadko teraz pisze się bądź czyta teksty naukowe w języku polskim, ale chciałabym zwrócić uwagę na kilka kwestii:

Opisując proces hemostazy, Doktorant pisze „W ten proces zaangażowane są czynniki krzepnięcia krwi, elementy morfotyczne krwi – płytki krwi lub trombocyty, naczynia krwionośne i współczulny układ nerwowy” Płytki krwi to są trombocyty. Kolejne niezręczne zdanie: „Po około 15 minutach od zranienia ustępuje lokalne

zwężenie naczyń krwionośnych na korzyść ich rozszerzenia.” Doktorant używa także określenie „kapilara” - w języku medycznym stosuje się określenie naczynie włosowate, sieć kapilarna. Niezręcznie brzmi także określenie „stymulowane fibroblasty” –może lepiej fibroblasty pobudzone do produkcji (...). Doktorant pisze także, że „miofibroblasty są markerami fibrozy” – zakładam, że są markerami włóknienia. We wstępie znalazło się także sformułowanie „Przy prawidłowo przebiegającym procesie naprawy, do tego czasu odbudowane są wszystkie warstwy skóry, w tym naskórek i skóra właściwa” – nasuwa się więc pytanie, jak wiele innych warstw posiada skóra? Pragnę także zauważyć, że mózdzek nie jest częścią mózgu, jest osobnym elementem mózgowia. Zwracam także uwagę na sformułowania takie jak „centralny ośrodek nerwowy” czy „komplikacje sercowo naczyniowe”, które nie występują w słowniku medycznym. Sądzę że rycina pokazująca miejsca produkcji APOE jest zbędna; sugeruje np., że APOE jest produkowane w tarczycy wyłącznie u mężczyzn, w szpiku kostnym u kobiet.

Podsumowując swoją recenzję, chciałabym wyrazić uznanie dla ogromu pracy, włożonej w realizację opisanego w pracy projektu doktorskiego. Zdaję sobie sprawę, że opisanie wyników, które nie pozwalają na udowodnienie postawionej hipotezy, zawsze jest trudniejsze. Stwierdzam, że rozprawa Pana magistra Szymona Czauderny spełnia wymagania stawiane pracom doktorskim i stawiam wniosek o dopuszczenie Go do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

