

Prof. dr hab. Urszula Wojda
Kierownik Pracowni Badań Przedklinicznych
o Podwyższonym Standardzie, Centrum Neurobiologii,
Instytut Biologii Doświadczalnej im. M. Nenckiego PAN
tel: (4822) 5892578; email: u.wojda@nencki.edu.pl

Warszawa, 26.11.2025 r.

Recenzja rozprawy doktorskiej

mgr Karoliny Wiśniewskiej

pt. „**Identyfikacja czynników genetycznych, biochemicznych i komórkowych wpływających na przebieg mukopolisacharydoz ze szczególnym uwzględnieniem choroby Sanfilippo**”

wykonanej w Katedrze Biologii Molekularnej Wydziału Biologii Uniwersytetu Gdańskiego
pod kierunkiem dr hab. Karoliny Pierzynowskiej, prof. UG

1. Znaczenie tematyki i uzasadnienie podjęcia badań

Rozprawa dotyczy **niezwykle istotnego i trudnego problemu badawczego**, jakim są mukopolisacharydozy (MPS) – rzadkie, ciężkie choroby lizosomalne o złożonym, wielonarządowym i silnie zróżnicowanym przebiegu klinicznym. Na szczególne podkreślenie zasługuje skoncentrowanie pracy na postaciach neuropatycznych MPS, zwłaszcza MPS III (zespół Sanfilippo), który stanowi najczęstszą formę MPS w Europie i w Polsce, a jednocześnie pozostaje jednym z największych wyzwań terapeutycznych ze względu na dominujące, dramatyczne objawy neurodegeneracyjne.

Złożoność fenotypu klinicznego, duża zmienność objawów oraz brak skutecznych terapii przyczynowych czynią podjętą tematykę **wysoce istotną zarówno poznawczo, jak i potencjalnie translacyjnie**.

2. Charakter rozprawy i spójność cyklu publikacji

Rozprawa została przygotowana w formie spójnego cyklu siedmiu publikacji (dwie prace przeglądowe i pięć prac doświadczalnych), opatrzonych obszernym streszczeniem w języku polskim i angielskim, liczącym łącznie 30 stron. **Rozprawa spełnia wymagania stawiane tego typu pracom doktorskim**. We wszystkich publikacjach Doktorantka jest pierwszą autorką, co należy jednoznacznie podkreślić.

Prace wchodzące w skład rozprawy opublikowano w recenzowanych czasopismach indeksowanych w Web of Science o współczynniku Impact Factor w przedziale ok. 1,9–5,3, przy średnim IF na czasopismo wynoszącym ok. 3,4 (m.in. *Journal of Applied Genetics*, *International Journal of Molecular Sciences*, *Current Issues in Molecular Biology*, *Gene*, *Frontiers in Bioscience*, *Biochemical and Biophysical Research Communications*, *European Child & Adolescent Psychiatry*). Publikacje te stanowią wartościowy wkład w rozwój dyscypliny. Pozytywnie należy ocenić również fakt publikowania wyników w różnych domach wydawniczych (Elsevier, MDPI, Springer Nature, IMR Press), co sprzyja budowaniu wiarygodności naukowej, dywersyfikacji źródeł recenzji, wspiera zdrową konkurencję w środowisku wydawniczym i zwiększa zasięg oraz potencjalny wpływ prezentowanych badań.

Streszczenie pracy obejmuje bardzo dobrze napisany wstęp teoretyczny dotyczący MPS, ich klasyfikacji, diagnostyki i terapii, jasno sformułowany cel pracy wraz z uzasadnieniem podjętych badań, logicznie uporządkowany opis wyników kolejnych publikacji oraz syntetyczne, merytoryczne podsumowanie.

Doktorantka w streszczeniu rozprawy w sposób dojrzały naukowo prezentuje ciąg swoich badań:

- pracę przeglądową dotyczącą problemów diagnostycznych w MPS, stanowiącą bardzo dobre wprowadzenie do problematyki chorób lizosomalnych i ich klasyfikacji;
- następnie przedstawia kolejne prace doświadczalne, obejmujące transkryptomiczną identyfikację genów różnicujących postacie neuropatyczne i nieneuropatyczne, analizę zmian ekspresji genów związanych z funkcją organelli komórkowych, porównania profili ekspresji między podtypami MPS III oraz MPS III i IV, identyfikację markerów molekularnych (w tym PFN1) i ich związków z poziomem GAG oraz analizę akumulacji białek neurodegeneracyjnych (APP, A β , tau, p-tau, α -synukleina, TDP-43);
- rozprawę zamyka praca przeglądowa dotycząca molekularnych i klinicznych mechanizmów zaburzeń behawioralnych i snu w MPS III oraz aktualnych możliwości leczenia objawowego.

Struktura rozprawy jest **spójna logicznie i napisana poprawnym, dojrzałym językiem naukowym**.

3. Metodyka badań i wkład własny doktorantki

Doktorantka wykazała się **wysokim stopniem samodzielności badawczej**. Zgodnie z oświadczeniami współautorów samodzielnie prowadziła hodowle ludzkich fibroblastów pochodzących z biopsji skóry pacjentów, wykonywała analizy transkryptomiczne, immunofluorescencyjne i immunoblotting, oznaczała poziomy GAG oraz analizowała ich zależności funkcjonalne po farmakologicznym obniżeniu. Uczestniczyła również w badaniach na mysim modelu MPS IIIB.

Zakres zastosowanych metod należy uznać za **nowoczesny, adekwatny do stawianych celów i wykonany z dużą kompetencją.**

4. Najważniejsze mocne strony pracy

- **Kompleksowa analiza transkryptomyczna**

Jednym z kluczowych osiągnięć rozprawy jest szeroka i wieloaspektowa analiza transkryptomyczna, obejmująca zarówno wspólne, jak i specyficzne szlaki sygnałowe w różnych typach MPS. Tak szerokie porównanie stanowi znaczący wkład w zrozumienie molekularnej heterogenności tej grupy chorób.

- **Różnicowanie postaci neuropatycznych i nieneuropatycznych**

Szczególnie wartościowy jest wątek identyfikacji mechanizmów odróżniających formy neuropatyczne od nieneuropatycznych. Badania te stanowią realny krok w kierunku zrozumienia, dlaczego określone typy MPS prowadzą do neurodegeneracji, a inne nie.

- **Spójność koncepcji badawczej i ciągłość hipotez**

Na szczególne podkreślenie zasługuje bardzo dobra spójność koncepcyjna całego cyklu badawczego. Przeprowadzone analizy nie mają charakteru zbioru luźnych, niezależnych projektów, lecz tworzą logicznie powiązany ciąg hipotez i ich weryfikacji. Autorka rozpoczęła badania od analiz transkryptomicznych, identyfikując kluczowe białka związane z patologią (m.in. PFN1, MFAP5, MMP12), a następnie potwierdziła ich funkcjonalny związek z poziomem GAG poprzez modulację farmakologiczną oraz podejście knockdown PFN1. Logicznym rozwinięciem tej sekwencji była analiza procesów związanych z patologią białek i peptydów agregujących (A β , tau, TDP-43).

Taka ciągłość koncepcji badawczej świadczy o dojrzałości naukowej Doktorantki, umiejętności krytycznego planowania eksperymentów oraz konsekwentnego budowania modelu mechanistycznego badanych procesów.

- **Pierwsze badania białka TDP-43 w kontekście MPS**

Rozprawa prezentuje pierwsze w literaturze dane dotyczące obecności i potencjalnej roli TDP-43 w MPS. Otwiera to nową perspektywę badań i może mieć istotne znaczenie dla zrozumienia powiązań między MPS a neurodegeneracją.

- **Powiązanie siarczanu heparanu z neurodegeneracją**

Praca w sposób przekonujący łączy akumulację siarczanu heparanu z aktywacją procesów typowych dla chorób neurodegeneracyjnych, w tym patologii amyloidowej i tau. Jest to temat o wysokim potencjale translacyjnym i stanowi ważne rozszerzenie klasycznego ujęcia patogenezy MPS.

- **Identyfikacja nowych potencjalnych celów terapeutycznych i biomarkerów**

Na uwagę zasługuje wskazanie nowych kandydatów na cele terapeutyczne i biomarkery transkryptomiczne. Dotyczy to zarówno białek związanych z metabolizmem GAG, jak i elementów regulujących homeostazę komórkową.

- **Oryginalne obserwacje dotyczące profiliny (PFN1)**

Bardzo interesujący i nowatorski jest wątek dotyczący roli PFN1 jako białka regulującego poziom GAG oraz organizację cytoszkieletu aktynowego i transport błonowy. Autorka formułuje też kreatywną hipotezę dotyczącą możliwego prionopodobnego mechanizmu wpływu PFN1 na toksyczne przekształcenia TDP-43. Hipoteza ta jest bardzo interesująca, należy jednak pamiętać, że wykracza poza bezpośrednio wykazaną część eksperymentalną.

- **Potencjał translacyjny**

Mimo że badania mają charakter podstawowy, ich wyniki posiadają czytelny potencjał aplikacyjny, m.in. w odniesieniu do projektowania strategii terapeutycznych ukierunkowanych na mechanizmy wspólne dla MPS i chorób neurodegeneracyjnych. Praca wychodzi poza czysto opisowy charakter i wskazuje potencjalne nowe kierunki interwencji terapeutycznych i biomarkerów.

5. Uwagi krytyczne

- **Ograniczenia modelu badawczego**

Zastosowanie fibroblastów ludzkich do badań mechanizmów neurodegeneracyjnych jest dobrze uzasadnione, jednak model ten pozostaje modelem pośrednim. W pracy brakuje wyraźnego przedstawienia planowanej walidacji uzyskanych wyników w modelach neuronalnych, takich jak neurony różnicowane z iPSC lub iNeurons uzyskane z reprogramowanych fibroblastów. Uwzględnienie takich modeli istotnie wzmocniłoby wnioski pracy. Brak funkcjonalnej walidacji najważniejszych obserwacji w modelach neuronalnych jest najistotniejszym ograniczeniem pracy, gdyż ogranicza możliwość bezpośredniego odnoszenia wyników do mechanizmów zachodzących w neuronach.

- **Precyzja analizy białek związanych z neurodegeneracją**

Relacje pomiędzy poziomem GAG a akumulacją białek neurodegeneracyjnych (APP, A β , tau, p-tau, α -synukleina, TDP-43) są bardzo interesujące, jednak mają przede wszystkim charakter korelacyjny, bez pogłębionej analizy form toksycznych i agregatów. Brakuje szczegółowego określenia, które formy A β wykrywały zastosowane przeciwciała (monomery, oligomery, agregaty), brakuje szczegółowej analizy wyników Western blottingu pod kątem form oligomerycznych/agregacyjnych, a także precyzyjnej charakterystyki badanych epitopów tau, zwłaszcza p-tau181 i p-tau217. W przypadku APP pomocna byłaby analiza produktów jego amyloidogennego trawienia.

- **Interpretacja obecności białka tau w fibroblastach**

Wykrycie tau w fibroblastach skóry jest zgodne z literaturą, jednak w pracy zabrakło krytycznej refleksji nad biologicznym znaczeniem tego zjawiska oraz jego ograniczeniami interpretacyjnymi. Nie wyjaśniono, które izoformy tau oraz które epitopy fosforylacyjne zostały zidentyfikowane oraz na ile obserwowane zmiany mogą odzwierciedlać procesy charakterystyczne dla neuronów.

- **Brak integratywnego schematu patogenetycznego**

Pomocne byłoby przedstawienie jednego, syntetycznego modelu patogenezy obrazującego zależności pomiędzy GAG, PFN1, autofagią i patologią białek agregujących.

- **Lokalizacja siarczanu heparanu i jego potencjalne interakcje**

W pracy nie doprecyzowano, w jakich przedziałach komórkowych może dochodzić do interakcji siarczanu heparanu z tau czy amyloidem. Dane literaturowe wskazują, że w tych procesach główną rolę odgrywają proteoglikany heparanosiarkowe obecne na powierzchni komórki i w macierzy zewnątrzkomórkowej, a także powiązany z nimi szlak endocytotycznie-lizosomalny. W pracy zabrakło bardziej szczegółowej dyskusji na ten temat.

- **Brak uwzględnienia ograniczeń metod RNA-seq**

W pracy zabrakło bardziej krytycznej refleksji nad ograniczeniami analiz transkryptomicznych, w szczególności odnoszącymi się do heterogeniczności linii komórkowych i potencjalnych różnic wynikających z tła genetycznego pacjentów.

Podsumowanie

Mimo przedstawionych uwag krytycznych, bardzo wysoko oceniam rozprawę mgr Karoliny Wiśniewskiej. Praca stanowi **oryginalne i wartościowe osiągnięcie naukowe**, wnosi nowe dane do badań nad patogenezą MPS i mechanizmami neurodegeneracji oraz wykazuje znaczący potencjał aplikacyjny.

Lektura rozprawy nie pozostawia wątpliwości, że Doktorantka zdobyła rozległą wiedzę, wysoki poziom kompetencji metodologicznych oraz umiejętność krytycznej analizy danych, co zapewnia jej swobodę w podejmowaniu wymagających wyzwań naukowych i umożliwia prowadzenie samodzielnych badań.

Stwierdzam, że przedstawiona do recenzji rozprawa spełnia warunki określone w art. 187 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (tj. Dz. U. z 2018 poz. 1668). W związku z tym wnioskuję do Rady Dyscypliny Nauki Biologiczne Uniwersytetu Gdańskiego **o dopuszczenie mgr Karoliny Wiśniewskiej do dalszych etapów postępowania o nadanie stopnia doktora w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych w dyscyplinie nauki biologiczne.**

Ponieważ rozprawa stanowi pierwszą tak szeroką próbę uchwycenia wspólnych i specyficznych osi patogenetycznych w obrębie wielu podtypów MPS, wykraczającą poza pojedyncze modele choroby, jednocześnie **wnioskuję o jej wyróżnienie.**

Prof. dr hab. Urszula Wojda