

[logo]

Uniwersytet w Göteborgu

## Sprawozdanie z recenzji pracy doktorskiej złożonej na Uniwersytecie Medycznym w Białymstoku

**Autor: mgr Maciej Dulewicz**

**Tytuł: Ocena wybranych białek związanych z plastycnością synaptyczną w chorobie Alzheimer.**

**Promotorzy:**

**Prof. dr. hab. n. med. Barbara Mroczko**

**Prof. Dr. med. Piotr Lewczuk**

### Tło projektu

Choroba Alzheimer (AD) jest rosnącym problemem globalnym, dotykającym bezpośrednio ponad 55 milionów ludzi, ich rodzin i społeczności. AD stanowi ponad 60% wszystkich przypadków demencji na świecie, będąc najczęstszą formą demencji. Choroba Alzheimer (AD) nadal stanowi pilne wyzwanie dla opieki klinicznej, działań zdrowotnych i opieki paliatywnej. Chociaż ostateczne potwierdzenie patologii choroby Alzheimer uzyskuje się poprzez badanie autopsyjne tkanki mózgowej pod kątem zewnątrzkomórkowych blaszek amyloidowych złożonych z peptydów amyloidu-beta ( $A\beta$ ) i wewnątrzneuronalnych splotów neurofibrylarnych (NFT) zawierających fosforylowane formy tau (p-tau), to jednak diagnoza *in vivo* jest obecnie osiągnięta za pomocą płynu mózgowo-rdzeniowego (PMR) lub biomarkerów neuroobrazowania. Biomarkery neuroobrazowania, które mogą jednocześnie identyfikować biologiczne dowody na obecność choroby Alzheimer, obejmują pozytronową tomografię z zastosowaniem  $A\beta$  (PET) w celu wykrycia amyloidozы mózgu, PET z zastosowaniem tau w celu wykrycia patologii NFT, strukturalną tomografię rezonansu magnetycznego (MRI) w celu wykrycia atrofii hipokampu oraz PET z zastosowaniem fluorodeoksyglukozy (FDG) w celu wykrycia zmian metabolicznych mózgu. Dla CSF trzy markery (nazywane podstawowymi biomarkerami choroby Alzheimer) mogą wspólnie wykryć "pozytywny profil choroby Alzheimer". Są to:  $A\beta_{42}$  (lub stosunek  $A\beta_{42}/A\beta_{40}$ ), który odzwierciedla patofizjologię blaszek  $A\beta$ ; fosforylowane białko tau (p-tau), wskaźnik fosforylacji tau; oraz całkowite białko tau (t-tau), wskaźnik uszkodzenia neuronalnego lub neurodegeneracji. Stężenia tych biomarkerów u osób z biologicznymi dowodami

choroby Alzheimer różnią się od stężeń w grupie kontrolnej.  $A\beta_{42}$  jest zmniejszony, natomiast  $A\beta_{40}$  pozostaje bez zmian. Jednak stosunek  $A\beta_{42}/A\beta_{40}$  uwzględnia międzyosobowe różnice w stężeniach skłonny do agregacji peptydu  $A\beta_{42}$ , co czyni ten stosunek bardziej niezawodnym wskaźnikiem patologii blaszek  $A\beta$  w porównaniu z samym  $A\beta_{42}$ . Poziomy p-tau i t-tau są

  
*Robert Filipowicz*

zwiększone u osób z chorobą Alzheimera w porównaniu z osobami zdrowymi, a stężenia biomarkerów wzrastają wraz ze stopniem zaawansowania choroby. t-tau PMR jest doskonały do rozróżnienia choroby Alzheimera od osób zdrowych. Światło neurofilamentowe (NfL) w PMR jest innym silnym wskaźnikiem neurodegeneracji, który teoretycznie może zastąpić t-tau w chorobie Alzheimera, jednak w odróżnieniu od t-tau, NfL PMR jest już zwiększony w innych chorobach neurodegeneracyjnych.

## Wstęp

Praca doktorska rozpoczyna się od wstępnego opisu podstawowych pojęć związanych z AD. Autor wyjaśnia znaczenie patologii synaptycznej, mechanizmy patofizjologiczne z nią związane, rolę A $\beta$  i tau oraz nowatorskie markery integralności synaptycznej w PMR. Są to neurogranina, receptor pentraksyny neuronalnej (NPTXR) oraz białko wiążące kwasy tłuszczowe 3 (FABP3). Dla każdego z tych markerów autor przedstawia wykresy Sankeya i pojęcia ontologii genów, opisujące procesy biologiczne, w które marker jest zaangażowany. Główna hipoteza pracy zakłada, że degeneracja synaptyczna jest kluczowym i wczesnym sygnałem choroby Alzheimera, a wskazane markery (neurogranina, NPTXR i FABP3) mogą służyć jako przydatne narzędzia diagnostyczne do ich wykrywania i ilościowego oznaczania. Dostarczone informacje są starannie opatrzone odniesieniami do odpowiedniej i najnowszej literatury, w większości opublikowanej w ostatniej dekadzie w wysoko cenionych recenzowanych czasopismach.

## Cele

Postawiono pięć głównych celów:

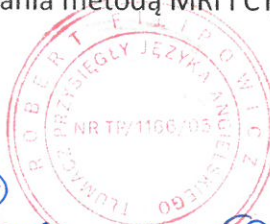
1. Ocena stężeń neurograniny, NPTXR i FABP3 w płynie mózgowo-rdzeniowym u pacjentów z chorobą Alzheimera, łagodnym upośledzeniem funkcji poznawczych (MCI) oraz u pacjentów niebędących chorymi na chorobę Alzheimera;
2. Porównanie poziomów markerów białek synaptycznych między grupami diagnostycznymi;
3. korelacja markerów między sobą oraz z klasycznymi/podstawowymi markerami AD w płynie mózgowo-rdzeniowym oraz kliniczna ocena funkcji poznawczych;
4. Ocena potencjału diagnostycznego markerów synaptycznych;
5. Ocena powiązań bioinformatycznych procesów biologicznych zaangażowanych w patologię synaptyczną w AD.

2

Cele są ściśle sformułowane i przedstawione. Znaczenie celów w dziedzinie badań nie może zostać przecenione. Naukowcy zajmujący się chorobą Alzheimera zaczęli doceniać, że degeneracja synaptyczna jest kluczowym elementem procesu chorobowego obserwowanego w chorobie Alzheimera i może wyjaśniać wiele zmian patofizjologicznych obserwowanych w tej chorobie.

## Materiały i metody

Próbki płynu mózgowo-rdzeniowego (PMR) zostały pobrane od pacjentów, którzy uczęszczali do kliniki neurologicznej w Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego. Uczestniczyło w tym 70 osób: 34 z chorobą Alzheimera, 18 z łagodnym upośledzeniem funkcji poznawczych (MCI) i 19 zdrowych osób kontrolnych. Procedura pobierania PMR jest opisana, a także diagnoza i klasyfikacja pacjentów za pomocą obrazowania metodą MRI i CT, a także biomarkerów w PMR.



Robert Filipowicz



Następnie przedstawiono szczegółowe informacje na temat platform testów immunologicznych, metod i partii odczynników stosowanych do pomiaru podstawowych biomarkerów i markerów synaptycznych będących przedmiotem zainteresowania w PMR. Opisano również analizę statystyczną wykorzystaną do oceny uzyskanych danych. Na końcu pracy znajduje się certyfikat zgody komisji bioetycznej.

### **Wyniki i ich omówienie**

Imponujące jest to, że wyniki badania zostały opublikowane w czterech artykułach recenzowanych przez specjalistów w dziedzinie: dwa w czasopiśmie *International Journal of Molecular Sciences* oraz dwa w *Journal of Clinical Medicine*.

Publikacja P.1 to systematyczny przegląd wartości neurograniny i VILIP-1 (ten drugi marker nie był w obszarze zainteresowania pracy doktorskiej) jako wskaźników neurodegeneracji w chorobie Alzheimera.

Publikacja P.3 to oryginalny artykuł, który dowodzi, że FABP3 i APOE e4 są markerami metabolizmu lipidów w chorobie Alzheimera.

Publikacja P.4 to również oryginalny artykuł, który pokazuje, że neurogranina i NPTXR są markerami dysfunkcji synaptycznej w chorobie Alzheimera.

Publikacja P.5 łączy analizy biomarkerów PMR i analizy bioinformatyczne w celu oceny markerów dysfunkcji synaptycznej i aksonalnej w chorobie Alzheimera.

3

Autor przechodzi następnie do opisu kluczowych wyników każdej publikacji, a także przedstawia podsumowanie dyskusji na temat wyników i ich implikacji.

Wydruki publikacji zostały również dołączone do pracy doktorskiej.

Procentowy wkład autora w każdą z publikacji jest również wymieniony na końcu pracy doktorskiej. W każdej publikacji wyniki badania są starannie przedstawione - w formie interaktywnych i kolorowych wykresów oraz tabel, a także omówione.

Końcowe streszczenie pracy dyplomowej jest dostępne zarówno w języku polskim, jak i angielskim.

### **Uwagi szczegółowe**

Warto zauważyć, że praca badawcza nie posiada istotnych wad. Niemniej jednak, jest kilka kwestii, które warto omówić:

1. W publikacji P.5 autorzy używają klasyfikacji AD, MCI i grupa kontrolna. Ważne jest, aby dokładnie rozróżnić między MCI a AD - czy AD oznacza "AD z otępieniem" i czy MCI odnosi się do MCI ogólnie lub "MCI z powodu AD".
2. Przydałoby się dodać końcowy akapit podsumowujący dla całej pracy na końcu, tuż przed wydrukiem pracy.

### **Uwagi końcowe**

Praca osiągnęła światowy poziom jakości. Wnioski są poparte wynikami, a omówienie jasno odnosi się do tych wyników. Ponadto, wszystkie cele badawcze wyznaczone na początku pracy zostały osiągnięte. Język jest klarowny, spójny i zrozumiały. Jestem absolutnie przekonany, że ta praca



Robert Filipowicz

doktorska spełnia polskie i międzynarodowe standardy i wymagania dotyczące kształcenia doktorantów. Wykazano niezbicie, że Maciej wnosi oryginalne rozwiązania do znanych problemów naukowych. Wykazuje się imponującą wiedzą teoretyczną i praktyczną w dziedzinach biomarkerów i bioinformatyki. Podsumowując, autor posiada zdolność do niezależnego formułowania pytań badawczych oraz przeprowadzania badań opartych na hipotezach w celu znalezienia odpowiedzi.

4

W związku z powyższym, gorąco polecam Senatowi Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku, aby przekazał tę pracę doktorską do kolejnego etapu procedury nadawania stopnia doktora, który może obejmować jej publiczną obronę. Jest to pod każdym względem wybitna rozprawa doktorska.

Göteborg (Szwecja), dn. 31 października 2022 r.

[podpis nieczytelny]

dr Thomas K. Karikari  
Adiunkt  
Uniwersytet w Göteborgu  
Szwecja

5

---

*Ja, Robert Filipowicz, tłumacz przysięgły języka angielskiego wpisany na listę tłumaczy przysięgłych Ministra Sprawiedliwości pod numerem TP/1166/05, stwierdzam zgodność powyższego tłumaczenia z oryginałem dokumentu.*

Białystok, dn. 02.11.2022

Rep. 2390 / 2022



*Robert Filipowicz*