



UNIwersytet Medyczny
IM. PIASTÓW ŚLĄSKICH WE WROCLAWIU

Prof. dr hab. Jolanta Saczko

Wrocław, 26 października 2021 r.

Kierownik Katedry i Zakładu Biologii Molekularnej
i Komórkowej Wydziału Farmaceutycznego
Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

Recenzja rozprawy doktorskiej mgr Anny Lewickiej

**pt.: „Lokalizacja i funkcja fosforylasy glikogenu w miogenezie *Drosophila melanogaster*
i *Danio rerio*”**

Przedstawiona do recenzji praca doktorska mgr Anny Lewickiej dotyczy określenia lokalizacji i funkcji fosforylasy glikogenu w procesie miogenezy u *Drosophila melanogaster* i *Danio rerio*.

Rozwój mięśni szkieletowych jest procesem wieloetapowym, w którym ważną rolę odgrywają czynniki genetyczne i środowiskowe. Ostatnio badania wykazały, że w miogenezę zaangażowane są białka, które jednocześnie katalizują reakcje glikogenolizy. Mutacje w obrębie genów, których produkty są zaangażowane w ten proces mogą prowadzić do nieprawidłowego rozwoju mięśni, czego konsekwencją są miopatie metaboliczne.

Doktorantka podjęła się analizy porównawczej roli fosforylasy glikogenowej w procesie miogenezy na dwóch organizmach modelowych *D. melanogaster* oraz *D. rerio*. Glikogenaza typu V jest chorobą genetyczną spowodowaną właśnie mutacjami w genie kodującym mięśniową izoformę fosforylasy glikogenowej. Wybrane przez Doktorantkę modele badawcze umożliwiają poznanie mechanizmów molekularnych choroby i jej wpływu na cały organizm w trakcie jego rozwoju. Badania jakich podjęła się Doktorantka mogą przyczynić się do opracowania bardziej skutecznych metod leczenia tego schorzenia.

Cel badawczy, jakiego podjęła się mgr Anna Lewicka jest w pełni uzasadniony, ważny i nowatorski.

Przedłożona mi do oceny praca mgr Anny Lewickiej liczy 172 strony i ma klasyczny, typowy dla tego typu rozpraw układ. Składa się ze spisu treści, streszczenia w języku polskim i angielskim, wykazu skrótów oraz rozdziałów: *Wprowadzenie, Cel pracy, Materiały i Metody, Wyniki, Dyskusja i Wnioski*.

Na początku dysertacji Doktorantka przedstawia swój dorobek naukowy. Mgr Anna Lewicka jest współautorem 6 publikacji naukowych (szkoda, że Autorka nie podsumowuje swojego dorobku w oparciu o IF i punkty ministerialne).

Zamieszczony na początku wykaz stosowanych skrótów czyni rozprawę bardziej dostępną i ułatwia jej zrozumienie nawet przez osoby nie zajmujące się poruszonym tematem. Myślę jednak, że można nie podawać skrótów związków powszechnie stosowanych jak np.: ATP DAPI czy FGF.

We wstępie Doktorantka wprowadza nas w tematykę pracy. Uważam, że ten rozdział dysertacji został przygotowany w sposób bardzo interesujący i precyzyjnie nawiązuje do celów i tematu pracy. Doktorantka opisuje typy włókien mięśniowych, rozwój i budowę mięśni poprzecznie prążkowanych, somitogenezę kręgowców. Opisuje także rozwój mięśni u wybranych przez siebie modeli badawczych. Dużą część tego rozdziału zajmuje opis budowy glikogenu i jego roli w organizmie człowieka oraz wybranych gatunków modelowych. Doktorantka przedstawia budowę, funkcję i regulację fosforylasy glikogenowej także u gatunków modelowych. Przybliży czytelnikowi anomalie, które są związane z zaburzeniami glikogenu i fosforylasy glikogenowej jakim są miopatie metaboliczne, zwracając szczególnie uwagę na glikogenozy. We Wstępie dysertacji umieszczone są bardzo czytelne ryciny, które ułatwiają zrozumienie zagadnień w nim umieszczonych.

Doktorantka wyraźnie określa jakie były założenia pracy i jakie postawiła przed sobą cele do zrealizowania. Uważam, że plany mgr Anny Lewickiej były bardzo ambitne i przemyślane z szeroko zakrojonymi badaniami na wybranych modelach badawczych. Potwierdzeniem tego jest też dobór metod jakie Doktorantka zaplanowała do swoich badań.

Rozdział pracy Materiał i Metody opisane są w sposób bardzo staranny i szczegółowy.

Doktorantka z dużą precyzją opisuje pozyskiwanie i warunki hodowli materiału do badań. Bardzo dokładnie opisuje metody biologii molekularnej zastosowane w pracy. Doktorantka opisuje także wykorzystane przez nią analizy immunocytochemiczne, histochemiczne, fenotypowe, ocenę tkanki w świetle spolaryzowanym i mikroskopii elektronowej. Ten rozdział kończy opis zastosowanych w pracy metod statystycznych.

Rozdział Wyniki mgr Anna Lewicka rozpoczęła od oceny filogenetycznej fosforylaz glikogenowych w modelach badawczych. Ta analiza dowodzi o wysokim stopniu konserwatywności w sekwencji aminokwasowej pomiędzy poszczególnymi fosforylazami glikogenowymi u *D. melanogaster*, *D. rerio* i *H. sapiens*. Analiza poziomu miofosforylaz za pomocą Real-Time PCR, wykazała, że zarówno geny *pygma* i *pygmb* ulegają ekspresji w zarodku *D. rerio*, a ich poziom jest zróżnicowany w tkankach osobników dorosłych. Doktorantka wykazała w swoich badaniach, że transkrypcja genu dla miofosforylasy glikogenowej zachodzi zróżnicowanie w zależności od rodzaju mięśni. Wyniki badań wykazały także, że tkankowo-specyficzne obniżenie ekspresji *GlyP* w mięśniach somatycznych *D. melanogaster*, jak i przejściowe wyciszenie *pygma* i *pygmb* prowadzi do zaburzeń w morfologii rozwijających się włókien mięśniowych i aparatu kurczliwego, zmniejsza się średnica włókien. Zmiany te zaobserwowano na poziomie ultrastruktury. Wyniki te świadczą bez wątplenia o istotnej roli miofosforylasy glikogenowej w homeostazie i funkcjonowaniu mięśni. Wyniki przedstawione zostały w sposób czytelny, opisowo i odpowiednio udokumentowane w formie rycin oraz dokładnie omówione z uwzględnieniem istotności statystycznej.

W dyskusji przedstawiono kolejno wyniki uzyskane w poszczególnych metodach oraz omówiono je i porównano z odpowiednimi wynikami innych autorów w oparciu o najnowszą literaturę. Za nowatorskie i bardzo ułatwiające pracę recenzentowi uważam podział dyskusji na podrozdziały zgodne z podrozdziałami wyników. Doktorantka bardzo precyzyjnie i w bardzo dojrzały sposób naukowy przedyskutowała wszystkie uzyskane w projekcie wyniki wyciągając wnioski końcowe.

Podsumowując, cele rozprawy doktorskiej zostały w pełni zrealizowane przez Doktorantkę. Wyniki są bez wątpienia oryginalne i wartościowe. Wzbudzą zainteresowanie światowych ośrodków pracujących nad podjętymi przez Doktorantkę problemami. Autorka rozprawy doktorskiej precyzyjnie wykonała szereg dobrze zaplanowanych eksperymentów, z których w sposób bardzo logiczny zostały wyciągnięte wnioski.

W podsumowaniu stwierdzam, że Doktorantka wykazała się wysoką umiejętnością prowadzenia badań naukowych, bardzo właściwym doбором metod badawczych i wielką umiejętnością wyciągania wniosków z uzyskanych wyników.

Rozprawa doktorska mgr Anny Lewickiej pt.: Lokalizacja i funkcja fosforylasy glikogenu w miogenezie *Drosophila melanogaster* i *Danio rerio*, spełnia warunki określone w Ustawie z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. z 2016 r., poz. 882 z późn. zm.), w związku z art. 179 ust.1 ustawy z dnia 3 lipca 2018 r. Przepisy wprowadzające ustawę – Prawo o szkolnictwie Wyższym i nauce (Dz. U. z 2018 r., poz. 1669 ze zm.). Na tej podstawie wnoszę do Rady Dyscypliny Nauk Biologicznych Uniwersytetu Wrocławskiego o dopuszczenie mgr Anny Lewickiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Z uwagi na duży wkład pracy Doktorantki, wagę i oryginalność uzyskanych wyników oraz Jej wysoki poziom przygotowania merytorycznego oraz metodycznego wnioskuję do Rady Dyscypliny Nauk Biologicznych Uniwersytetu Wrocławskiego o wyróżnienie rozprawy doktorskiej.

