



Saint Kitts, dnia 16 lipca 2026 r.

RECENZJA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

mgr Anity Lizińczyk

Tytuł rozprawy: „Rola Apolipoproteiny E w Patogenezie Chorób Prionowych / Role of Apolipoprotein E in the Pathogenesis of Prion Diseases (w piśmie przewodnim funkcjonującej pod tytułem: „Efekt genotypu APOE na aktywację komórek mikrogleju w patogenezie chorób prionowych”).

Promotor: dr hab. Magdalena Druszczyńska, prof. UŁ; promotor pomocniczy/opiekun naukowy części eksperymentalnej: dr hab. n. med. Martin Sadowski (New York University Grossman School of Medicine).

Recenzja sporządzona na zlecenie Komisji Uniwersytetu Łódzkiego do spraw stopni naukowych w dyscyplinie nauki biologiczne (pismo z dnia 4 maja 2026 r.), zgodnie z wymogami Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r.: Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce oraz wskazaniem Rady Doskonałości Naukowej.

1. Przedmiot i forma rozprawy

Recenzowana rozprawa doktorska mgr Anity Lizińczyk dotyczy roli apolipoproteiny E (apoE) w patogenezie chorób prionowych. Praca ma charakter rozprawy opartej na cyklu publikacji. Stanowi ją zbiór dwóch oryginalnych prac doświadczalnych opublikowanych w czasopiśmie *Acta Neuropathologica Communications*, opatrzonej autorskim, spójnym wprowadzeniem teoretycznym, opisem hipotezy, celów, metodyki, wyników i wniosków, a także bibliografią oraz oświadczeniami współautorów o ich indywidualnym wkładzie. Taka forma jest w pełni zgodna



z praktyką przyjętą w naukach biomedycznych i pozwala na rzetelną ocenę dorobku Doktorantki.

2. Ocena układu rozprawy

Układ pracy jest przejrzysty i logiczny. Rozprawa zawiera wszystkie elementy wymagane dla pracy doktorskiej: streszczenie w języku angielskim i polskim, wprowadzenie teoretyczne, hipotezę badawczą, szczegółowe cele projektu, opis metodyki, wyniki ułożone zgodnie z poszczególnymi celami badawczymi, wnioski końcowe, bibliografię. W części załącznikowej przedstawiono pełne teksty obu prac wchodzących w skład rozprawy wraz z suplementami oraz oświadczenia współautorów. Struktura ta umożliwia czytelnikowi płynne przejście od ogólnego kontekstu biologicznego, przez sformułowanie problemu badawczego, do szczegółowych wyników i ich interpretacji. Streszczenia (w obu językach) trafnie i kompletnie referują najważniejsze ustalenia pracy. Jedyną drobną niedoskonałością formalną jest niejednolite oznaczenie pierwszego z pięciu celów badawczych w części „Wyniki”. W odróżnieniu od celów 2–5, nie został on opatrzony nagłówkiem „Aim 1”, co stanowi usterkę edytorską niewpływającą na merytoryczną wartość pracy.

3. Ocena zastosowanego piśmiennictwa

Część wprowadzająca rozprawy oparta jest na publikacjach, obejmujących klasyczne prace dotyczące biologii prionów oraz aktualne piśmiennictwo poświęcone roli apoE w neurodegeneracji. Doboru cytowań dokonano starannie. Obejmują one zarówno prace źródłowe ustalające podstawowe fakty biologiczne, jak i nowsze przeglądy syntetyzujące wiedzę o izoformo-specyficznym działaniu apoE. Doktorantka trafnie umiejscawia własne wyniki na tle wcześniejszych ustaleń dotyczących roli APOE w chorobie Alzheimera i innych proteinopatiach, co świadczy o dobrej orientacji w literaturze przedmiotu. Zastosowane piśmiennictwo jest adekwatne do zakresu pracy, choć przegląd literatury mógłby zostać nieznacznie wzbogacony o najnowsze prace dotyczące interakcji apoE–TREM2 w kontekście mikrogleju o fenotypie



neurodegeneracyjnym (MGnD); uwaga ta nie umniejsza jednak wartości przedstawionego tła teoretycznego.

4. Cel pracy

Celem ogólnym rozprawy było określenie roli apoE w patogenezie chorób prionowych oraz zbadanie, czy polimorfizm genu APOE (allele $\epsilon 2$, $\epsilon 3$, $\epsilon 4$) różnicuje przebieg tej choroby. Cel ten został rozbity na pięć precyzyjnie sformułowanych celów szczegółowych: (1) ocena globalnych i komórkowo-specyficznych zmian ekspresji apoE w trakcie infekcji prionowej, (2) określenie wpływu konstytutywnego knock-outu Apoe na latencję i ciężkość choroby, (3) identyfikacja mechanizmów, przez które brak apoE modyfikuje patologię prionową, (4) ocena wpływu ludzkich alleli APOE na czas inkubacji i ciężkość choroby, (5) identyfikacja mechanizmów różnicowanych przez allele APOE. Cele te są naukowo istotne, dobrze umotywowane stwierdzonym brakiem wiedzy o roli apoE w prionozach (w przeciwieństwie do dobrze ugruntowanej roli apoE w chorobie Alzheimera) oraz zostały w pełni i konsekwentnie zrealizowane w dalszej części pracy.

5. Ocena zastosowanych metod badawczych

Metodyka zastosowana w pracy jest nowoczesna, wieloaspektowa i właściwie dobrana do postawionych celów badawczych. Doktorantka wykorzystwała mysz model choroby prionowej (szczep 22L trzęsawki owiec adaptowany do myszy), obejmujący pięć linii zwierząt: myszy dzikiego typu C57BL/6, myszy Apoe^{-/-} oraz trzy linie myszy z bi-alleliczną, celowaną zamianą (targeted replacement) mysiego genu Apoe na ludzkie allele $\epsilon 2$, $\epsilon 3$ i $\epsilon 4$. Model ten uznawany jest za standard w badaniach nad izoformo-specyficznym działaniem apoE. Zakres zastosowanych technik jest bardzo szeroki i obejmuje: testy behawioralne (parallel bar crossing test, total scrapie score), analizy histopatologiczne i immunohistochemiczne z kwantyfikacją obciążenia zmianami spongiotycznymi, ilościowy Western blot, testy odporności na proteinazę K, testy rozpuszczalności w detergentach, sedymentację w gradiencie sacharozy do oceny



oligomeryzacji PrP, konfokalną mikroskopię laserową z analizą CTCF do oceny ekspresji apoE w poszczególnych typach komórek, koimmunoprecypitację kompleksów apoE/PrP, profilowanie transkryptomyczne (NanoString nCounter), RT-qPCR oraz wielowymiarowe testy ELISA cytokin i chemokin. Liczebności grup zwierząt (przedstawione w Tabeli 1) są odpowiednie do zastosowanych analiz statystycznych i pozwalają na wiarygodną interpretację różnic między genotypami. Zastosowanie dwóch punktów czasowych (15 i 23 tygodni po inokulacji) umożliwiło rozróżnienie zmian wczesnych (predsymptomatycznych) od zmian w pełni rozwiniętej choroby, co jest metodologicznie wartościowym rozwiązaniem. Należy pozytywnie ocenić również analizę obciążenia PrPSc w śledzienie, która pozwoliła wykluczyć wpływ genotypu APOE na replikację prionów w układzie limfatycznym przed neuroinwazją i tym samym umożliwiła jednoznaczne przypisanie obserwowanych różnic mechanizmom ośrodkowym. Drobną uwagą metodologiczną jest to, że w opisie linii mysich w rozdziale „Metodologia” widnieje oczywista usterka redakcyjna. Linia APOE-TR $\epsilon 4/\epsilon 4$ jest błędnie opisana jako powstała przez zamianę genu Apoe na ludzkie allele „ $\epsilon 2$ ” (powinno być $\epsilon 4$); z kontekstu całej pracy oraz wyników jednoznacznie wynika, że jest to błąd pisarski, a nie nieprawidłowość w samym projekcie badania.

6. Ocena wyników i ich dyskusji

Wyniki przedstawione w rozprawie są obszerne, wewnątrznie konsekwentne i poddane wnikliwej analizie statystycznej. Doktorantka wykazała, że infekcja prionowa indukuje istotny wzrost poziomu apoE w mózgu, związany z charakterystycznym przesunięciem źródła jego ekspresji z astrocytów (w warunkach fizjologicznych) na mikroglej o fenotypie neurodegeneracyjnym (MGnD), który w stanie spoczynkowym apoE nie wytwarza. Jest to obserwacja nowa i interesująca poznawczo, dobrze udokumentowana metodami obrazowania ilościowego pojedynczych komórek. Wykazanie, że konstytutywny brak apoE (myszy Apoe^{-/-}) istotnie przyspiesza ujawnienie się objawów neurologicznych, pogarsza ich progresję oraz zwiększa



obciążenie zmianami neuropatologicznymi, stanowi mocno udokumentowany i przekonujący dowód na udział apoE w patogenezie chorób prionowych; problem, który wcześniej pozostawał nierozstrzygnięty. Szczególną wartość poznawczą mają wyniki dotyczące mechanizmu tego zjawiska: deficyt fagocytozy mikrogleju MGnD (mierzony obniżonym udziałem komórek CD68+/TREM2+ pomimo nasilonej sygnalizacji „find me/eat me”), prowadzący do akumulacji niezdegradowanych resztek neuronalnych i PrPSc, co napędza błędne koło neurozapalenia. Interpretacja apoE jako opsoniny wspomagającej fagocytozę mikroglialną jest dobrze poparta danymi i stanowi istotny wkład w zrozumienie biologii MGnD w prionozach. Druga część wyników, dotycząca zróżnicowanego wpływu alleli $\epsilon 2$, $\epsilon 3$ i $\epsilon 4$ na przebieg choroby, jest równie solidna. Wykazanie hierarchii $\epsilon 4 > \epsilon 2 > \epsilon 3$ w odniesieniu do czasu inkubacji, nasilenia objawów neurologicznych, obciążenia zmianami spongiotycznymi oraz, co istotne mechanistycznie, konwersji, akumulacji i oligomeryzacji PrPSc, a także nasilenia odpowiedzi neurozapalnej, jest oryginalnym i klinicznie istotnym wynikiem, ponieważ dotychczasowe badania epidemiologiczne nie wykazywały jednoznacznego wpływu polimorfizmu APOE na ryzyko chorób prionowych u ludzi. Wykazanie biochemicznej interakcji apoE z PrP (silniejszej w wariancie $\epsilon 4$) oraz brak tej interakcji w mózgach zwierząt kontrolnych jest dobrze zaprojektowanym eksperymentem wzmacniającym wiarygodność proponowanego mechanizmu. Dyskusja wyników jest umiejętnie powiązana z analogicznymi mechanizmami opisanymi wcześniej w chorobie Alzheimera, co pozwala Doktorantce na sformułowanie szerszego wniosku o wspólnych, izoformo-zależnych mechanizmach działania apoE w różnych proteinopatiach mózgu.

7. Praktyczne zastosowanie wyników badań

Wyniki rozprawy mają istotne znaczenie poznawcze i potencjalnie aplikacyjne. Identyfikacja apoE i jego receptorów oraz szlaków sygnalizacyjnych mikrogleju (np. osi C1q/C3/C3AR1) jako modyfikatorów przebiegu chorób prionowych otwiera możliwość poszukiwania nowych celów terapeutycznych nie tylko w prionozach, lecz, ze względu na mechanistyczne podobieństwa,



również w innych proteinopatiach neurodegeneracyjnych. Ustalenie, że genotyp APOE może modulować przebieg choroby prionowej u ludzi (allele $\epsilon 2$ i $\epsilon 4$ niekorzystnie w porównaniu z $\epsilon 3$), ma potencjalne znaczenie prognostyczne, choć, jak Doktorantka sama zaznacza, jego bezpośrednia translacja kliniczna wymaga dalszych badań na materiale ludzkim, które są znacząco utrudnione ze względu na rzadkość przypadków i ryzyko zakaźne związane z pracą z ludzkimi prionami.

8. Nieprawidłowości i uwagi krytyczne

W rozprawie nie zidentyfikowano nieprawidłowości o charakterze merytorycznym, które podważałyby wiarygodność przedstawionych wyników lub wniosków. Poniższe uwagi mają charakter wyłącznie redakcyjny lub dyskusyjny:

- Opisana wyżej usterka redakcyjna w opisie genotypu linii APOE-TR $\epsilon 4/\epsilon 4$ w rozdziale Metodologia (allel błędnie podany jako $\epsilon 2$);
- Brak jednolitego oznaczenia nagłówka „Aim 1” w rozdziale Wyniki, w odróżnieniu od pozostałych czterech celów;
- Badania ograniczają się do jednego szczepu prionów (22L); zasadne byłoby, w dyskusji, szersze odniesienie się do ograniczeń wynikających ze zróżnicowania szczepów prionowych i możliwości generalizacji wniosków na inne szczepy oraz na ludzkie prionozy;
- Zastosowane testy behawioralne (parallel bar crossing test, total scrapie score) mają charakter ogólnych skal klinicznych; wzbogacenie ich o bardziej czułe testy funkcji poznawczych mogłoby dodatkowo wzmocnić wnioski dotyczące wpływu apoE na funkcjonalny przebieg choroby, choć nie jest to konieczne dla udokumentowania postawionych celów.

Żadna z powyższych uwag nie ma charakteru dyskwalifikującego i nie wpływa na ogólnie wysoką ocenę wartości naukowej rozprawy.



9. Oryginalność rozwiązania problemu naukowego

Rozprawa stanowi oryginalne rozwiązanie istotnego problemu naukowego. Problem ten pozostawał wcześniej nierozstrzygnięty. ApoE jest białkiem o ugruntowanej pozycji w patogenezie choroby Alzheimera i innych proteinopatii. Jego rola w chorobach prionowych nie była dotychczas systematycznie badana. Dostępne dane epidemiologiczne dotyczące ludzi były niejednoznaczne. Doktorantka, wykorzystując dobrze zaprojektowany model myszy, po raz pierwszy wykazała zarówno sam fakt zaangażowania apoE w patogenezę prionoz, jak i zidentyfikowała konkretne, izoformo-zależne mechanizmy tego zaangażowania (konwersja/akumulacja PrPSc, dysfunkcja fagocytarna mikrogleju MGnD, nasilenie odpowiedzi neurozapalnej). Oryginalność pracy potwierdza fakt opublikowania głównych wyników w uznanym, recenzowanym czasopiśmie międzynarodowym (Acta Neuropathologica Communications), a wcześniejsza, prezentacja wyników na renomowanych konferencjach międzynarodowych (m.in. Alzheimer's Association International Conference, Society for Neuroscience) świadczy o ich uznaniu przez środowisko naukowe jeszcze przed formalnym zamknięciem rozprawy.

10. Ocena wiedzy teoretycznej i umiejętności samodzielnego prowadzenia pracy naukowej

Treść wprowadzenia teoretycznego, sposób formułowania hipotezy i celów badawczych, a także swoboda, z jaką Doktorantka dyskutuje uzyskane wyniki w kontekście szerszej literatury dotyczącej neurodegeneracji, świadczą o bardzo dobrym opanowaniu wiedzy teoretycznej z zakresu biologii prionów, neuroimmunologii i biologii apolipoproteiny E. Zastosowanie szerokiego wachlarza technik, od testów behawioralnych in vivo, przez immunohistochemię i biochemię białek, do analiz transkryptomicznych i bioinformatycznych, oraz umiejętność ich integracji w spójną narrację mechanistyczną dowodzi dobrze rozwiniętych kompetencji metodologicznych i umiejętności samodzielnego planowania oraz prowadzenia złożonego projektu badawczego. Status pierwszej autorki (dzielonej, „dual first authorship”) w obu publikacjach wchodzących



w skład rozprawy jest istotnym, obiektywnym potwierdzeniem wiodącej roli Doktorantki w realizacji badań, opracowaniu wyników i przygotowaniu manuskryptów.

11. Wniosek o wyróżnienie rozprawy doktorskiej

Biorąc pod uwagę kryteria określone w Uchwale nr 1/O/2025 Komisji Uniwersytetu Łódzkiego do spraw stopni naukowych w dyscyplinie nauki biologiczne, wnioskuję o wyróżnienie niniejszej rozprawy doktorskiej.

Uzasadnienie wniosku:

Wyróżniający się poziom merytoryczny: rozprawa rozstrzyga istotny, wcześniej otwarty problem naukowy (udział apoE w patogenezie prionoz) na podstawie wieloaspektowych, metodologicznie rygorystycznych badań obejmujących pięć linii zwierząt i kilkanaście niezależnych technik analitycznych, co znacząco przekracza standardowy zakres prac doktorskich w tej dyscyplinie.

Szczególne walory poznawcze: praca identyfikuje nowe, dotąd nieopisane mechanizmy jak komórkowo-specyficzne przesunięcie ekspresji apoE z astrocytów na mikroglej MGnD oraz rolę apoE jako opsoniny niezbędnej dla prawidłowej fagocytozy mikroglialnej PrPSc i resztek neuronalnych, a także po raz pierwszy wykazuje izoformo-zależny (e4>e2>e3) wpływ alleli APOE na przebieg choroby prionowej.

Innowacyjność podejścia badawczego: zastosowanie modelu myszy z bi-alleliczną, celowaną zamianą genu Apoe na ludzkie allele (APOE-TR) w połączeniu z mysim modelem prionozy oraz wielopłaszczyznową analizą transkryptomiczną i proteomiczną stanowi nowatorskie podejście metodologiczne w badaniach nad chorobami prionowymi.

Potwierdzona przez niezależną recenzję wartość wyników: główne wyniki opublikowano w międzynarodowym czasopiśmie recenzowanym (Acta Neuropathologica)



Communications), a Doktorantka jest pierwszą (dzieloną) autorką obu prac wchodzących w skład rozprawy, co dodatkowo potwierdza jej wiodący wkład w powstanie tych publikacji.

12. Konkluzja

Podsumowując, recenzowana rozprawa doktorska mgr Anity Lizińczyk pt. „Rola Apolipoproteiny E w Patogenezie Chorób Prionowych” spełnia wymogi ustawowe stawiane rozprawom doktorskim określone w Ustawie z dnia 20 lipca 2018 r.: Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce. Stanowi oryginalne rozwiązanie istotnego problemu naukowego, dokumentuje ogólną wiedzę teoretyczną Doktorantki w dyscyplinie nauki biologiczne oraz potwierdza jej umiejętność samodzielnego prowadzenia pracy naukowej. Wobec powyższego stawiam wniosek do Komisji Uniwersytetu Łódzkiego do spraw stopni naukowych w dyscyplinie nauki biologiczne o dopuszczenie mgr Anity Lizińczyk do dalszych etapów postępowania o nadanie stopnia doktora, a także o wyróżnienie tej rozprawy doktorskiej.

prof. dr hab. Krzysztof Czaja
Department of Biomedical Sciences,
Ross University School of Veterinary Medicine,
Saint Kitts, West Indies