

**OCENA ŚRÓDOKRESOWA**  
**– ZA OKRES OD 01.10.2023 DO 30.09.2025**  
 MID-TERM ASSESSMENT FOR PERIOD 01.10.2023 – 30.09.2025

**JULIA TOMCZAK**

.....

**Tytuł rozprawy doktorskiej**  
 Original title of doctoral dissertation

*Rola szlaku sygnałowego cAMP/PKA w przeżyciu i regeneracji neuronów po aksotomii nerwu wzrokowego. / The role of compartmentalized cAMP/PKA signaling in neuronal survival and regeneration following otic nerve axotomy.*

**Komisja Ewaluacyjna ds. Oceny Śródokresowej Doktoranta Międzynarodowej Szkoły  
 Doktorskiej Uniwersytetu Medycznego w Łodzi (UM) w dyscyplinie: nauki medyczne w  
 składzie:**

Evaluation Commission for Mid-term Assessment the PhD student at UM International Doctoral School  
 in the discipline: medical sciences consists of:

| No. | Tytuł / stopień naukowy, imię, nazwisko<br>Scientific title / degree, name, surname | Rola<br>Role                                            |
|-----|-------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------|
| 1.  | <b>dr hab. n. med. Katarzyna Sobierajska</b>                                        | Przewodniczący Komisji<br>Head of the Committee         |
|     | Uniwersytet Medyczny w Łodzi<br>Medical University of Lodz                          |                                                         |
| 2.  | <b>dr hab. n. med. Michał Karbownik</b>                                             | Członek Komisji z UM<br>Member from the MUL             |
|     | Uniwersytet Medyczny w Łodzi<br>Medical University of Lodz                          |                                                         |
| 3.  | <b>dr hab. Adrian Smędowski</b>                                                     | Członek Komisji spoza UM<br>Member from outside the MUL |
|     | Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach                                            |                                                         |
| 4.  | <b>mgr Katarzyna Płoszka</b>                                                        | Obserwator – doktorant<br>Observer – Doctoral student   |
|     | Uniwersytet Medyczny w Łodzi<br>Medical University of Lodz                          |                                                         |

## Ocena końcowa doktoranta JULIA TOMCZAK

Final assessment of PhD student

**POZYTYWNA**

POSITIVE

### Uzasadnienie końcowej oceny Komisji

Justification of Commission's final assessment

Na podstawie przedłożonej do oceny dokumentacji dotyczącej działalności kształcenia w Międzynarodowej Szkole Doktorskiej Uniwersytetu Medycznego w Łodzi komisja pozytywnie ocenia doktorantkę. Formalna analiza realizacji Indywidualnego Planu Badawczego wskazuje, że projekt rozwija się w sposób zgodny z przyjętą koncepcją badawczą. Zagadnienie pracy – dotyczący organizacji przestrzennej sygnalizacji cAMP/PKA w neuronach oraz roli kompleksu mAKAP $\alpha$  – jest ambitny, nowatorski i wpisuje się w aktualne kierunki badań neurobiologii komórkowej. Dobór metod badawczych obejmujący obrazowanie FRET w czasie rzeczywistym, techniki biochemiczne, immunoprecypitację, manipulacje genetyczne (AAV2/LV-shRNA) oraz testy funkcjonalne jest w adekwatny do założonych celów i świadczy o zaawansowaniu projektu. Zrealizowane dotychczas etapy obejmują m.in. identyfikację cyklicznych adenylinowych, analizę ich interakcji z mAKAP $\alpha$ , ocenę ich funkcjonalnej roli oraz wdrożenie metodologii FRET, co stanowi fundament dla dalszych badań. Istotnym walorem jest równoległe przygotowanie pierwszych rozdziałów wynikowych oraz prezentacja rezultatów na konferencjach FEBS 2025 i PTBioch Bio2025, a także publikacja dwóch artykułów przeglądowych, co potwierdza aktywność naukową doktorantki. Zaobserwowane przesunięcia czasowe w analizie szlaków mAKAP–ERK5/RSK i mAKAP–CaN/NFAT wynikają z konieczności pogłębionej optymalizacji metod, w szczególności biosensorów AKAR4/KAAR4- nesprin, oraz walidacji narzędzi molekularnych. Są one uzasadnione charakterem eksperymentów i nie wpływają negatywnie na ogólną realizację projektu. Dotychczasowy stopień realizacji (ok. 45% całego projektu, przy ~90% zadań roku I–II) jest adekwatny do harmonogramu czteroletniego. Projekt cechuje się wysokim poziomem innowacyjności, interdyscyplinarnością i złożonością analizy danych. Formułowane wnioski są spójne, logiczne i oparte na realnie uzyskanych wynikach. Prace prowadzone są w sposób metodyczny i w pełni odpowiadają standardom nauk biomedycznych. Ocena merytoryczna zrealizowanych etapów projektu jest trudna do przeprowadzenia, ponieważ Doktorantka nie przedstawia w raporcie metodologii ani wyników przeprowadzonych analiz, a jedynie własne wnioski wynikające z badań przez co niemożliwa jest ocena potencjalnych błędów metodologicznych. Na podstawie przedstawionych przez Doktorantkę wniosków, zidentyfikowano kilka wątpliwości naukowych przedstawionych poniżej. Temat projektu Doktorantki mówi o aksonotomii komórek zwojowych siatkówki, natomiast z opisu można wnioskować, iż Doktorantka swoje rozważania opiera głównie na komórkach linii R28 oraz na modelu neuropatii niedokrwiennej u myszy (szczegóły nie są znane, ponieważ Doktorantka nie przybliży dokładnej metodyki badań). Biorąc pod uwagę tytuł bardziej odpowiednim modelem byłyby komórki RGC uzyskane z immunopanningu (właściwa aksonotomia) a jako model – przecięcie n.II. Przyjmując jednakże aktualnie zastosowane modele badawcze, tytuł projektu powinien zostać zmieniony, ponieważ Doktorantka nie stosuje aksonotomii na żadnym z etapów badań. Doktorantka przedstawia, iż zrealizowano badania obejmujące identyfikację i charakterystykę cyklicznych adenylinowych w siatkówce (10 izoform, z czego trzy – AC2, AC5 i AC10 – tworzą kompleksy z mAKAP $\alpha$ ), nie podaje jednak o jakie siatkówki chodzi. W tym etapie nie ma wzmianki o badaniu in vivo, natomiast pojawia się aspekt analizy tkanek. Doktorantka nie przedstawia również stosownych zgód Komisji Etycznej do realizacji zadań na zwierzętach. Doktorantka wykorzystuje linię R28 jako model in vitro dla komórek zwojowych siatkówki, co nie jest merytorycznie uzasadnione. Komórki te jako komórki prekursorowe mogą wykazywać ekspresję różnorodnych markerów, co nie uzasadnia ich klasyfikowania jako postmitotycznych komórek zwojowych siatkówki. Pomimo pewnych ograniczeń uniemożliwiających przeprowadzenie analizy (szczególnie skąpość przedstawionych danych naukowych), ogólna ocena przedstawionego projektu jest dobra, a osiągnięty postęp stanowi podstawę do kontynuacji badań w latach III i IV oraz przygotowania kompletnej rozprawy doktorskiej. On the basis of the documentation submitted for evaluation regarding the activity of education at the International Doctoral School of the Medical University of Lodz, the committee assess the doctoral student positively. A formal analysis of the implementation of the Individual Research Plan indicates that the project is developing in accordance with the adopted research concept. The subject of the dissertation— concerning the spatial organization of cAMP/PKA signaling in neurons and the role of the mAKAP $\alpha$  complex—is ambitious, innovative, and aligned with current directions in cellular neurobiology. The selection of research methods, including real-time FRET imaging, biochemical techniques,

immunoprecipitation, genetic manipulations (AAV2/LV-shRNA), and functional assays, is appropriate for the stated objectives and reflects the advanced nature of the project.

The stages completed thus far include, among others, the identification of adenylyl cyclases, analysis of their interactions with mAKAP $\alpha$ , assessment of their functional roles, and the implementation of the FRET methodology, which together form a solid foundation for further research. A significant advantage is the concurrent preparation of the initial results chapters and the presentation of findings at the FEBS 2025 and PTBioch Bio2025 conferences, as well as the publication of two review articles, all of which confirm the scientific activity of the Doctoral Student.

The observed delays in analyzing the mAKAP–ERK5/RSK and mAKAP–CaN/NFAT signaling pathways result from the need for in-depth methodological optimization, particularly of the AKAR4/AKAR4- nesprin biosensors, as well as validation of molecular tools. These delays are justified by the nature of the experiments and do not negatively impact the overall implementation of the project. The current level of completion (approximately 45% of the total project, with ~90% of Year I–II tasks accomplished) is adequate for a four-year timeline. The project is characterized by a high level of innovation, interdisciplinarity, and analytical complexity. The conclusions drawn are coherent, logical, and based on actual experimental results. The work is conducted methodically and fully aligns with the standards of biomedical research.

A substantive evaluation of the completed stages is difficult to perform because the Doctoral Student does not present in the Report the methodology or results of the conducted analyses, but only the conclusions derived from them, which makes it impossible to assess potential methodological errors. Based on the conclusions provided by the Doctoral Student, several scientific concerns have been identified and are listed below.

The project title refers to axotomy of retinal ganglion cells; however, the description suggests that the Doctoral Student bases her considerations primarily on the R28 cell line and a mouse model of ischemic neuropathy (details unknown, as the Student does not provide a description of the experimental methodology). Considering the project title, a more appropriate model would involve RGCs obtained through immunopanning (true axotomy) and an optic nerve transection model. If the currently used experimental models are to be maintained, the project title should be changed, since axotomy is not performed at any stage of the research. The Doctoral Student reports having completed studies involving the identification and characterization of adenylyl cyclases in the retina (10 isoforms, of which three—AC2, AC5, and AC10—form complexes with mAKAP $\alpha$ ), but does not specify which retinas were examined. Although this stage mentions tissue analysis, there is no indication of in vivo studies. The Student also does not provide the required Ethical Committee approvals for conducting animal experiments.

The Doctoral Student uses the R28 line as an in vitro model of retinal ganglion cells, which is not scientifically justified. As progenitor-like cells, R28 cells may express a variety of markers, which does not support their classification as postmitotic retinal ganglion cells.

Despite several limitations that prevent a full evaluation (particularly the scarcity of scientific data presented), the overall assessment of the project is good, and the progress achieved provides a basis for continuing the research in Years III and IV and preparing a complete doctoral dissertation.

## **Opinia dotycząca jakości opieki naukowej i wsparcia w prowadzeniu działalności naukowej**

Opinion concerning scientific guidance and support in conducting scientific activities

|                                                                             |
|-----------------------------------------------------------------------------|
| <b>Promotor</b><br><b>Supervisor</b><br><b>dr hab. n.med. Tomasz Boczek</b> |
| <b>BARDZO DOBRA</b><br>VERY GOOD                                            |

## Ocena prezentacji osiągnięć doktoranta i dyskusja naukowa

Assessment of Presentation of Achievements and scientific discussion

| <b>JULIA TOMCZAK</b><br>Prezentacja osiągnięć i dyskusja naukowa<br>Presentation of Achievements and scientific<br>discussion | Ocena<br>Assesment               |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------|
| Prezentacja osiągnięć doktoranta<br>PhD student's Presentation of Achievements                                                | <b>BARDZO DOBRA</b><br>VERY GOOD |
| Dyskusja naukowa<br>Scientific discussion                                                                                     | <b>BARDZO DOBRA</b><br>VERY GOOD |