



Instytut Farmakologii
im. Jerzego Maja
Polskiej Akademii Nauk

Kraków, 26.05. 2026

Ocena

rozprawy doktorskiej mgr Joanny Dunackiej

pt. *“Wpływ różnic w aktywności lokomotorycznej i reaktywności stresowej u szczurów na rozwój zaburzeń kognitywnych i depresyjnych oraz efektywność terapii z użyciem insulinopodobnego czynnika wzrostu – 1 w streptozotocynowym modelu choroby Alzheimer’a”.*

Choroba Alzheimer’a (AD) jest chorobą cywilizacyjną, której częstotliwość występowania wzrasta w szybszym tempie, co w dużej mierze związane jest z wydłużeniem średniej przeżycia wielu społeczeństw. Pomimo „popularności” AD, podłoże dominującej - sporadycznej postaci tej choroby pozostaje nadal niewyjaśnione. Co więcej, pojawiają się doniesienia wskazujące na niedoskonałości dotychczasowych hipotez, które na przestrzeni wielu lat poszukiwań badawczych próbowały zdefiniować podłoże tego schorzenia. Obecnie sugeruje się, że patogenеза AD jest wieloczynnikowa i zróżnicowana, a wielopłaszczyznowe deficyty implikujące pojawienie się sporadycznej postaci tego schorzenia najczęściej w późnym etapie życia, modyfikowane są na wielu wcześniejszych etapach jej rozwoju, a więc na długo przed manifestacją objawów klinicznych. Z tego powodu temat badawczy podjęty przez mgr Joannę Dunacką jest aktualny i bardzo ważny. Główną ideą rozprawy jest bowiem próba poszukiwania nowych terapii choroby Alzheimer’a z jednej strony, a analiza wpływu różnic behawioralnych i wrażliwości na stres na jej pojawienie się i tempo rozwoju w poszczególnych etapach życia z drugiej, uzupełniając dotychczasowe poszukiwania podłoża tej patologii. Badania te wpisują się doskonale w obszar zainteresowań naukowych realizowanych w Katedrze Fizjologii Zwierząt i Człowieka Uniwersytetu Gdańskiego przez Panią promotor dr hab. Danutę Lewandowską.

Formalna i merytoryczna ocena rozprawy

Przedstawiona mi do oceny rozprawa doktorska jest bardzo obszernym dziełem liczącym aż 268 stron. Napisana została w formie hybrydowej łącząc znaleziska opublikowane w trzech oryginalnych pracach oraz wyniki doświadczeń jeszcze nieopublikowanych. Przedstawione wyniki stanowią całość i wskazują na gruntowne opracowanie podjętej przez Doktorantkę problematyki. Należy podkreślić, iż we wszystkich trzech pracach oryginalnych mgr Dunacka jest pierwszym autorem. Co więcej analizując oświadczenia współautorów wnioskuję o znaczącym wkładzie Doktorantki w powstanie tych prac zarówno na etapie planowania, wykonywania badań, analizy wyników czy wreszcie przygotowywania manuskryptów i

przeprowadzeniu ich przez proces redakcyjnej korekty. W konspekcie rozprawy zgodnie z wymaganiami nie zabrakło *Streszczenia* w języku polskim i angielskim, a także rozdziałów takich jak *Wstęp*, *Opis metodyki wraz z wynikami jeszcze nieopublikowanymi*, *Dyskusja*, *Podsumowanie i Wnioski oraz Piśmiennictwo*.

Rozdział *Wstęp* jest obszerny i doskonale wprowadza w przedmiot rozprawy. Znajdujemy w nim charakterystykę choroby Alzheimera z wyszczególnieniem obrazu zmian histopatologicznych oraz opisem deficytów behawioralnych obserwowanych w jej przebiegu. Autorka zwraca uwagę na dwoistość współwystępowanie niektórych zaburzeń psychicznych w tym depresji i lęku jako przyczyny lub wyniku zaburzeń indukowanych przez rozwój demencji AD. Na kolejnych stronach przedstawiono rolę procesów zapalnych zarówno na obwodzie jak i w ośrodkowym układzie nerwowym, zmian w neurotransmisji oraz zaburzeń sygnalizacji insulinowej, a także udział stresu oksydacyjnego w obrazie patologicznym tego schorzenia. W rozdziale tym zapoznać można się także z opisem wybranych modeli zwierzęcych służących badaczom do analizy etiopatogenezy i mechanizmów rozwoju tej jednostki chorobowej, a szczególną rolę poświęcono procedurze podania streptozotocyny (icv) - modelowi do indukcji sporadycznej postaci AD. Końcowe strony poświęciła Autorka opisowi insulinopodobnego czynnika wzrostu-1 (IGF-1) jako narzędziu do modulacji deficytów związanych z AD. Cały rozdział *Wstęp* napisany został poprawnie, chociaż Autorka nie ustrzegła się w nim niedociągnięć interpunkcyjnych czy ortograficznych. Nie jestem także pewna czy Doktorantka pisząc o interleukinie 1, miała faktycznie w każdym wypadku na myśli podjednostkę α , gdyż w kilku miejscach brakuje doprecyzowania tej istotnej kwestii; chciałabym także zapytać na podstawie jakich przesłanek Autorka wnioskuje, że „CX3CL1 wydzielana przez neurony indukuje prozapalną odpowiedź mikrogleju i zwiększoną syntezę prozapalnych cytokin” przez te komórki, skoro większość danych wskazuje, że oś CX3CL1-CX3CR1 odpowiada za prawidłowe interakcje neuronalno-mikroglejowe regulując balans homeostatyczny w mózgu; mam też wątpliwości czy w oparciu o przedstawione dane Doktorantka powinna definiować jednoznacznie rolę szlaku PI3K/AKT jako „szlaku wspierającego redukcję objawów AD”, w mojej ocenie jest to uproszczenie.

Na kolejnych stronach rozprawy mgr Dunacka przedstawiła w sposób jasny i klarowny *Cel i Hipotezy* pracy doktorskiej które obejmowały:

- zbadanie wpływu różnic osobniczych w aktywności lokomotorycznej jako wyznacznik wrażliwości na stres w podatności na rozwój sporadycznej postaci AD (sAD) i deficytów pamięci oraz zaburzeń depresyjnych i lękowych;
- ocenę wpływu dokomorowych podań IGF-1 w streptozotocynowym (STZ) modelu postaci sAD na rozwój patologii behawioralnych w tym zaburzeń lękowych i depresyjnych oraz deficyty pamięci;
- oraz korelację efektywności terapii IGF-1 z poziomem aktywności zwierząt [wysoko (HR) i nisko (LR) ruchliwe] na deficyty pamięci, zaburzenia lękowe i depresyjne w modelu sAD.

W rozprawie zamieszczono opis *Metodyki badań nieopublikowanych*, który jest jasny i generalnie wskazuje na właściwy dobór narzędzi badawczych oraz technik doświadczalnych przez Autorkę. Tym niemniej chciałabym zapytać czy faktycznie dobór zwierząt po pierwszej weryfikacji behawioralnej był „losowy” (str. 30), skoro w oparciu o testy behawioralne dokonano podziału na dwa fenotypy behawioralne HR vs LR? Co więcej na Rycinie 1 nie oznaczono prawidłowo wszystkich grup doświadczalnych w opisie części dotyczącej indukcji modelu sAD

oraz procedury podania IGF-1. Chciałabym także prosić Doktorantkę o komentarz dotyczący przesłanek zastosowania naprzemiennego schematu podań STZ oraz IGF-1 (po dwie dawki).

Kluczowe znaczenie dla ocenianej rozprawy mają wyniki w tym przedstawione w cyklu opublikowanych artykułów. Zostały już one podane ocenie i wnikliwej analizie przez redakcje czasopism i niezależnych recenzentów, a fakt ich opublikowania w prestiżowych czasopismach wskazuje na ich wysoką wartość naukową. Pierwsza z prac cyklu (Dunacka J., Świątek G., Wrona D.) „*High behavioral reactivity to novelty as a susceptibility factor for memory and anxiety disorders in streptozotocin-induced neuroinflammation as a rat model of Alzheimer's disease*” opublikowana została w *International Journal of Molecular Science*. Zastosowano w niej model sporadycznej postaci choroby Alzheimera (AD) oparty na podaniu streptozotocyny (STZ, icv), który zgodnie z dostępnym piśmiennictwem naśladuje aspekty sporadycznej postaci u pacjentów prowadząc między innymi do rozwoju w mózgu oporności insulinowej, zmian w metabolizmie glukozy, nasilonej fosforylacji białka tau, stresu oksydacyjnego, odpowiedzi zapalnej oraz deficytów behawioralnych w tym związanych z procesami pamięciowymi czy wrażliwością lękową. Wykorzystując ten model Doktorantka wykazała zróżnicowane, zachodzące w przebiegu rozwoju patologii sAD zmiany. Co ważne, u szczurów z wysoką aktywnością ruchową (HR) stwierdzono większą progresję choroby manifestującą się deficytami pamięci referencyjnej i nasilonymi zaburzeniami lękowymi. Pokazano także nasilenie miejscowego procesu zapalnego w mózgu w podwzgórzu (do oceny którego posłużyła analiza ilości komórek mikrogleju z ekspresją antygenu CD68+) oraz zwiększoną obecność złogów amyloidu beta głównie w jądrze półleżącym przegrody. Mój niedosyt budzi brak szerszej oceny fenotypu komórek mikrogleju w poszczególnych obszarach hipokampa i w innych analizowanych strukturach mózgu, i mam wątpliwość czy przeprowadzony pomiar tylko markera CD68+ upoważnia do postulowania o nasilonym procesie zapalnym w mózgu („*neuroinflammation*”). Proszę także o doprecyzowanie jak kształtowały się w warunkach bazalnych poziomy CD68+ w poszczególnych obszarach hipokampa oraz pozostałych strukturach, gdyż nie znalazłam tych wartości dla porównań przeprowadzonych i zilustrowanych na rycinie 4.

W skład cyklu wchodzi także praca opublikowana w periodyku *Pharmaceuticals* (Dunacka J., Grembecka B., Majkutewicz I., oraz Wrona D.) zatytułowana „*Central insulin-like growth factor-1 treatment enhances working and reference memory by reducing neuroinflammation and amyloid beta deposition in a rat model of sporadic Alzheimer's disease*” Autorka przedstawiła w niej analizę potencjału IGF-1 na indukowane deficyty, podawanego we wspomnianym już powyżej modelu szczurzym. Wykazano, że neurotrofina istotnie łagodzi zaburzenia pamięci roboczej, a także chociaż w umiarkowanym stopniu pamięci przestrzennej indukowane podaniem STZ. Podanie IGF-1 modulowało także proces zapalny, ale jedynie w obszarze CA2 hipokampa. Jednocześnie zaobserwowano zróżnicowany wpływ IGF-1 na poziom amyloidu beta w tym obniżenie ilości złogów w regionie CA1, natomiast wzrost w obszarach CA3 oraz w zakręcie zębatym hipokampa. Moje pytanie: jaki może być mechanizm tłumaczący te różnice i jakie może mieć to znaczenie w kontekście obserwowanych zmian w testach pamięci?

W ostatniej z prac wchodzących w skład cyklu (Dunacka J., Grembecka B., Wrona D.,) „*Central insulin-like growth factor-1 induced anxiolytic and antidepressant effects in a rat model of sporadic Alzheimer's disease are associated with the peripheral suppression of inflammation*” opublikowanej w *Cells* wykazano, że podanie IGF-1 ma działanie przeciwdepresyjne i przeciwłękowe w tożsamym jak w pozostałych pracach paradygmacie doświadczalnym

Doktorantka postuluje także, że podanie neurotrofiny moduluje poziom komórek układu odpornościowego oraz jego mediatorów – cytokin indukując supresję peryferycznej odpowiedzi immunologicznej, a efekt ten zależny jest od etapu progresji patologii w modelu sAD.

Na kolejnych stronach rozprawy Pani mgr Joanna Dunacka prezentuje wyniki dodatkowych, nieopublikowanych jak dotychczas badań. Ich celem była odpowiedź na pytanie czy różnice osobnicze we wrażliwości na stres mierzone poziomem aktywności lokomotorycznej mogą modulować efektywność terapeutycznego działania IGF-1. Efekt neurotrofiny analizowano poprzez ocenę jej wpływu na deficyty pamięci oraz podatność na zaburzenia depresyjne i lękowe oraz parametry histopatologiczne w modelu sAD. Badania przeprowadzono porównawczo w fazach bardzo wczesnej, wczesnej oraz późnej patologii AD. Wartość merytoryczną tych badań oceniam wysoko. Podkreślenia wymaga ich staranne i pracowite wykonanie, a szczególnie przeprowadzenie i analiza wielu parametrów behawioralnych z zastosowaniem baterii testów przeprowadzonych zgodnie z odpowiednimi zgodami komisji LKE. Analizy te Autorka uzupełniła stosując techniki immunofluorescencyjne oraz hematologiczne. Zapoznając się z uzyskanymi przez Doktorantkę wynikami chciałabym prosić o doprecyzowanie: która forma amyloidu beta (złogi amyloidu-beta vs oligomery amyloidu beta (np. str 236) faktycznie analizowane była z zastosowaniem wspomnianych technik; a także czy w opinii Doktorantki ocena poziomu CD68+ bez jednoczesnego zastosowania znakowania Iba-1 pozwala na jednoznaczne stwierdzenie, że obserwowane zmiany dotyczą aktywowanych komórek mikrogleju mając na uwadze fakt iż CD68+ jest niespecyficzną proteiną o wysokiej ekspresji komórek linii monocytarnej w tym krążących fagocytarnych komórek wędrujących do ośrodkowego układu nerwowego np. makrofagów w przebiegu procesów zapalnych?

Przedstawioną w dysertacji *Dyskusję* zawarto na 20 stronach maszynopisu. Jest ona autorskim opracowaniem Doktorantki prezentującym Jej zasób wiedzy, umiejętność wykazania spójności cyklu prac, formułowania wniosków i posługiwania się piśmiennictwem naukowym. Zwraca uwagę logiczna konstrukcja tej części rozprawy, obiektywizm interpretacji wyników własnych Autorki i prawidłowe odniesienie ich do dostępnego piśmiennictwa. Interpretacja uzyskanych wyników i ich kierunek wskazują na pozytywną weryfikację postawionych przez Doktorantkę hipotez, chociaż mój pewien niedosyt budzi brak bardziej wnikliwej analizy molekularnej mechanizmów obserwowanych zjawisk co, pozwoliłoby na ich jeszcze lepsze udokumentowanie. *Dyskusję* kończy *Podsumowanie i Wnioski* wynikające z rozprawy wraz z wyszczególnionymi przez Doktorantkę ograniczeniami przeprowadzonych badań, co świadczy o dojrzałości naukowej i obiektywizmie badawczym Pani mgr Dunackiej.

Podsumowanie i wnioski

Reasumując, przedstawiona do oceny rozprawa doktorska mgr Joanny Dunackiej skupia się na interesującym zagadnieniu naukowym dotyczącym wykazania wpływu zróżnicowania behawioralnego ocenianego poziomem aktywności lokomotorycznej oraz reaktywności stresowej na rozwój patologii po podaniu streptozotocyny u szczurów. Jest to praca wartościowa i wnosi nowe spojrzenie na te zjawiska w przebiegu sporadycznej postaci choroby Alzheimera oraz proponuje nową strategię terapeutyczną opartą o zastosowanie insulinopodobnego czynnika wzrostu-1, natomiast poczynione z obowiązku recenzenta uwagi nie wpływają istotnie na jej wartość merytoryczną. Warto podkreślić, że walory poznawcze oraz aplikacyjne uzyskanych przez Autorkę wyników zostały już docenione przez recenzentów czasopism, gdyż stanowią one przedmiot trzech opublikowanych spójnych tematycznie prac, w których mgr Joanna Dunacka jest pierwszym autorem. Dlatego z pełnym przekonaniem stwierdzam, że rozprawa doktorska pt. „*Wpływ różnic w aktywności*

lokomotorycznej i reaktywności stresowej u szczurów na rozwój zaburzeń kognitywnych i depresyjnych oraz efektywność terapii z użyciem insulinopodobnego czynnika wzrostu – 1 w streptozotocynowym modelu choroby Alzheimera” spełnia warunki określone w art.187 ust 1 i 2 Ustawy z dnia 20 lipca 2018r Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2018r. poz.1668 z późniejszymi zmianami) i przedkładam Radzie Dyscypliny Nauki biologiczne Uniwersytetu Gdańskiego wniosek o dopuszczenie mgr Joanny Dunackiej do dalszych etapów postępowania w sprawie nadania stopnia doktora w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych w dyscyplinie nauki biologiczne.

Agnieszka Basta-
Kaim

Elektronicznie podpisany przez
Agnieszka Basta-Kaim
Data: 2026.06.01 14:26:00 +02'00'

Prof. dr hab. n. med. Agnieszka Basta-Kaim