

Prof. dr hab. Jan Konopacki
Katedra Neurobiologii UŁ

Recenzja

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 Alzheimerera

wykonanej w Katedra Fizjologii Zwierząt i Człowieka

Uniwersytetu Gdańskiego

pod kierunkiem

Dr. hab. Danuty Lewandowskiej, prof. UG

Słowo wstępne.

Co 3 s. ktoś w świecie jest diagnozowany jako pacjent demencyjny. Daje to 10 mln rocznych zachorowań na demencję. W 70 % przypadków demencję definiuje się jako chorobę Alzheimerera (AD). Obecnie na świecie ok. 50 mln osób choruje na AD. W roku 2050 liczba ta osiągnie 150 mln. Dane z opracowań medycznych WHO wskazują, że choroby otępienne, a zwłaszcza AD, należą do najkosztowniejzych chorób współczesnej Europy. Roczne koszty AD w Polsce wynoszą 11 mld zł. Wg. raportu organizacji Alzheimer's Disease International, w 2010 r. światowe koszty opieki pacjentów z AD wynosiły 604 mld \$, w 2015 r. osiągnęły poziom 817 mld \$ a w 2050 osiągną jeden bilion \$.

W świetle powyższych informacji podstawowym problemem współczesnych badań podstawowych oraz klinicznych jest poszukiwanie metod terapeutycznych, które cofną objawy AD lub doprowadzą do jej remisji. Należy podkreślić, że każda praca naukowa poświęcona etiologii AD ma ogromne znaczenie aplikacyjne i powinna być z uwagą odnotowana. Przybliża nas bowiem do wypracowania w przyszłości właściwego postępowania klinicznego i ograniczenia kosztów społecznych demencji. Powyższa tematyka jest przedmiotem rozprawy doktorskiej mgr. Joanny Dunackiej.

Charakterystyka rozprawy

Praca doktorska mgr. Joanny Dunackiej ma charakter hybrydowy: część przedstawionych w rozprawie wyników została wcześniej opisana w 3 artykułach naukowych opublikowanych w latach 2024–2025 w *Intern. J. Med. Sci., Pharmaceuticals* oraz *Cells*. Łączny IF tych artykułów wynosi 14,9, a punktacja MNiSW wynosi 380. Już sama analiza powyższych informacji numerycznych wskazuje, że badania doktorantki są na wysokim poziomie. Pozostałe wyniki przeprowadzonych eksperymentów zostały przedstawione zgodnie ze standardami pisania manuskryptu rozprawy doktorskiej. Opublikowane dane doświadczalne zostały bardzo zgrabnie wkomponowane w rozdziale „Wyniki”, a następnie omówione wspólnie z wynikami nieopublikowanymi w rozdziale „Dyskusja”.

W zasadzie dla potrzeb rozprawy doktorskiej można było poprzestać na przedstawieniu jedynie wyników opublikowanych. Rozumiem, że doktorantka chciała przedstawić czytelnikowi wyniki całościowe, uzyskane podczas zaplanowanych wcześniej badań. Autorka zamieściła również dobrze zredagowane streszczenia w języku polskim i angielskim oraz spis stosowanych skrótów. Całość jest starannie wykonana pod względem edytorskim i dobrze zredagowana. Piszący recenzję miał ułatwione zadanie. Część wyników przedstawionych w opublikowanych pracach została bowiem wcześniej krytycznie oceniona przez kilku recenzentów.

Bardzo obszerny, bo liczący 48 str., wstęp rozprawy stanowi interesujący esej na temat etiologii AD. Osobne rozdziały poświęca doktorantka omówieniu zmian w zachowaniu, obrazie histologicznym oraz zaburzeniach w neurotransmisji. Przyczynom powstawania AD poświęciła autorka osobny rozdział. **W rozdziale tym zabrakło mi jednak przedstawienia innych przyczyn powstawania AD, takich jak wiek (ponieważ chorują głównie osoby starsze), płeć (najbardziej narażone na zachorowanie są kobiety), uwarunkowania dziedziczne (potwierdzone przypadki choroby w rodzinie), predyspozycje genetyczne (mutacje genów) czy wreszcie związek z mikrobiotą jelitową.**

Druga część wstępu orientuje czytelnika w modelach zwierzęcych AD oraz innych szczegółach metodycznych, które będą wykorzystywane w badaniach. Wstęp kończy się przedstawieniem trzech podstawowych hipotez, weryfikowanych w zaplanowanych eksperymentach. Celem rozprawy doktorskiej mgr Joanny Dunackiej było:

1. Zbadanie, czy różnice osobnicze we wrażliwości na stres, mierzone poziomem aktywności lokomotorycznej (osobniki wysokoruchliwe vs niskoruchliwe), znajdują odzwierciedlenie w zróżnicowaniu podatności na rozwój sporadycznej postaci AD (sAD) i związanych z nią deficytów pamięci oraz zaburzeń depresyjnych i lękowych.
2. Zbadanie, czy dokomorowe podanie insulinopodobnego czynnika wzrostu-1 (IGF-1) z jednoczesną indukcją sAD u szczurów zapobiegnie deficytom pamięci lub zmniejszy poziom zaburzeń depresyjno-lękowych towarzyszących progresji choroby.
3. Zbadanie, czy różnice osobnicze we wrażliwości na stres, mierzone poziomem aktywności lokomotorycznej (osobniki wysokoruchliwe vs niskoruchliwe), znajdują odzwierciedlenie w zróżnicowaniu efektywności terapii z użyciem IGF-1 deficytów pamięci oraz zaburzeń depresyjno-lękowych w modelu sAD.

Postawione w pracy doktorskiej cele naukowe oceniam jako b. ambitne i wymagające trudnych i żmudnych badań.

Część metodyczna została starannie i szczegółowo opisana na 10 str. rozprawy. Wstępne doświadczenia przeprowadzono z wykorzystaniem samców szczurów Wistar Han nie zróżnicowanych i zróżnicowanych pod względem poziomu aktywności lokomotorycznej/reaktywności stresowej na osobniki wysokoaktywne ruchowo (HR) vs. niskoruchliwe (LR). Przed indukcją zwierzęcego modelu AD wszystkie zwierzęta przechodziły szereg testów behawioralnych, w których określano poziom pamięci przestrzennej, zaburzeń lękowych, oraz poziom anhedonii. W następnej fazie badań zaindukowano u zwierząt model sAD poprzez dokomorowe iniekcje streptozocotyny (ICV-STZ). W osobnych doświadczeniach, wraz z indukcją choroby szczurom podawano także neurotrofinę (ICV-IGF-1), która poprzez regulację metabolizmu glukozy korzystnie wpływa m.in. na neuroprotekcję, neurogenezę oraz neuroregenerację.

Schemat eksperymentu został przedstawiony na ryc. 2. Mam dwie uwagi do tej ryciny:

1. Rycina ta byłaby czytelniejsza, gdyby powiększono ją do formatu A4.
2. W fazie indukcji modelu sAD nie zaznaczono na rycinie grupy zwierząt STZ SAL oraz grupy zwierząt STZ IGF-1. Grupy te są opisane tylko w legendzie ryciny.

Po indukcji modelu sAD zwierzęta 3-krotnie przechodziły tę samą procedurę behawioralną jak przed indukcją choroby (w pracy nie znalazłem informacji dotyczącej prawdopodobieństwa (%) wywołania sAD po dokomorowych iniekcjach streptozotyny u szczurów HR i LR). Po 7. i 90. dniu od indukcji sAD dokonywano procedury pobrania krwi bezpośrednio z serca i określano poziom obwodowych markerów stanu zapalnego, stężenia interleukiny-6, interleukiny-10, stężenia kortykosteronu oraz innych parametrów hematologicznych związanych z układem erytrocytarnym i trombocytarnym. Pod koniec późnej fazy sAD, po dokonaniu eutanazji (nie stosuje się terminu „uśmiercenie zwierząt”), pobrano mózg, śledzionę oraz grasnicę. W różnych regionach OUN za pomocą metody immunohistochemicznej oznaczono liczbę aktywowanych komórek mikrogleju oraz liczbę złogów β A.

Muszę przyznać, że zakres prowadzonych badań był imponujący. Wymagał on idealnej organizacji pracy w kilkuosobowym zespole.

Przeprowadzone eksperymenty wykazały, że w streptozotocynowym modelu sAD u szczurów HR o większej wrażliwości na stres dochodzi do silniejszych deficytów pamięci oraz zaburzeń lękowych niż u szczurów LR. Zmiany te u osobników HR są skorelowane ze zwiększonym odkładaniem złogów β A w formacji hipokampa i w części brzeżnej jądra półleżącego.

Niezwykle cennym odkryciem doktorantki jest to, że indukcja sAD u szczurów, połączona z jednoczesną dokomorową iniekcją neurotrofiny IGF-1, zmniejsza zaburzenia pamięci przestrzennej oraz zaburzenia depresyjno-lękowe, towarzyszące progresji sAD. Ten pozytywny efekt neurotrofiny IGF-1 powiązany jest m. in. z wyraźnym zmniejszeniem liczby złogów β A w obszarze CA1 formacji hipokampa oraz niższym poziomem neurozapalnym w obszarze CA2 tej struktury. Ośrodkowe podanie IGF-1 szczurom z modelem sAD i zróżnicowanym pod względem wrażliwości na stres (HR vs. LR) zmniejsza deficyty pamięci oraz zaburzenia lękowo-depresyjne w sposób zależny od indywidualnej

charakterystyki behawioralnej. U zwierząt HR obserwuje się silniejsze zmniejszenie deficytów pamięci przestrzennej, powiązane z redukcją liczby złogów β A oraz liczby komórek CD68+ w formacji hipokampa. Co ciekawe, u szczurów LR z modelem sAD iniekcje ICV-IGF-1 wywierają silniejszy efekt antydepresyjny i anksjolityczny niż u szczurów HR.

Bez wątpienia pozytywny efekt neurotrofiny IGF-1 obserwowany w przeprowadzonych przez mgr Joannę Dunacką badaniach ma ogromne znaczenie terapeutyczne. Wskazuje bowiem na możliwość przywrócenia zaburzonej sygnalizacji insulinowej we wczesnym stadium sporadycznej postaci AD (np. w fazie MCI, middle cognitive impairment) poprzez ośrodkowe podanie neurotrofiny IGF-1. Jak słusznie podkreśla doktorantka, wynik ten może stanowić całkowicie nowe podejście w leczeniu tej choroby i związanych z nią zaburzeń neuropsychiatrycznych. Potwierdzeniem tej hipotezy są dotychczasowe obserwacje kliniczne, że ryzyko wystąpienia AD zwiększa się u pacjentów z cukrzycą typu 2.

Znakomitym uzupełnieniem przeprowadzonych badań byłoby w przyszłości przeanalizowanie w uzyskanym modelu AD zmian w mikrobiocie jelitowej, zwłaszcza że streptozotocyna jest pochodną nitrozomocznika i glukozaminy, naturalnie produkowaną przez bakterie ze szczepu *Streptomyces achromogenes*.

Przedstawione w pracy wyniki zostały ciekawie omówione w części dyskusyjnej rozprawy. Dyskusja jest wielowątkowa i na bardzo dobrym poziomie. Świadczy o tym również liczba trafnie dobranych i wyselekcjonowanych 260 pozycji piśmiennictwa, z których ponad 20% to artykuły opublikowane w ostatnich pięciu latach. Obszerna i wielowątkowa dyskusja świadczy o b. dobrym przygotowaniu doktorantki pod względem teoretycznym. Dyskusja kończy się osobnym rozdziałem, podsumowującym wszystkie uzyskane wyniki, i ilustrowanym dobrze zaprojektowaną kolorową ryciną. To dobry zabieg redakcyjny autorki ułatwiający „ogarnięcie” i zrozumienie dużej liczby uzyskanych wyników.

Przedstawione wyniki w sposób jasny definiują obraz behawioralny szczura z rozwiniętymi deficytami sAD. Biorąc pod uwagę uzyskane wyniki, chciałbym poprosić doktorantkę o próbę zdefiniowania obrazu potencjalnego pacjenta, u którego prawdopodobieństwo wystąpienia AD jest znaczne.

Moją uwagę zwrócił ostatni rozdział rozprawy pt. „Ograniczenia badań”, w którym mgr Joanna Dunacka przedstawia, jej zdaniem, słabsze strony przeprowadzonych eksperymentów. Rozdział ten nie jest spotykany w rozprawach doktorskich. Świadczy o dużej dojrzałości doktorantki i jej krytycznym podejściu do własnych badań. To ogromnie ważna i godna odnotowania cecha młodego pracownika naukowego.

Podsumowanie

Przedstawiona mi do recenzji rozprawa doktorska dowodzi, że mgr Joanna Dunacka jest doskonale przygotowana pod względem teoretycznym, jak również pod względem znajomości wielu trudnych technik laboratoryjnych do dalszej samodzielnej pracy naukowej. Duża erudycja autorki sprawiła, że praca została napisana w sposób bardzo starannie przemyślany i w dobrym języku. Recenzowana rozprawa doktorska stanowi przemyślane koncepcyjnie, dobrze wykonane i opisane rozwiązanie istotnego i aktualnego problemu naukowego. Nie mam wątpliwości, że stanowi również pod względem klinicznym istotną wartość aplikacyjną.

5. Wniosek końcowy

Uważam, że recenzowana rozprawa doktorska spełnia warunki określone w art. 187 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2021 r., poz. 478, 619, 1630). Na tej podstawie przedkładam Wysokiej Radzie Dyscypliny Nauki Biologiczne Uniwersytetu Gdańskiego wniosek o dopuszczenie mgr Joanny Dunackiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

6. Wniosek o wyróżnienie

Bardzo wysoki poziom i zakres badań naukowych przedstawionej rozprawy doktorskiej, jej duża wartość aplikacyjna oraz fakt, że znaczna część przedstawionych wyników została wcześniej opublikowana w czasopismach o zasięgu międzynarodowym, upoważniają mnie do wystąpienia dodatkowo do Wysokiej Rady Dyscypliny Nauki Biologiczne Uniwersytetu Gdańskiego z wnioskiem o stosowne jej wyróżnienie.

Łódź, dnia 27. 04. 2026 r.

prof. dr hab. Jan Konopacki
