

Lublin, 28.04.2014

Dr hab. n. med. Hanna Trębacz
Katedra i Zakład Biofizyki
Uniwersytet Medyczny w Lublinie

Recenzja rozprawy doktorskiej

mgr. Bartłomieja Stańczykiewicza

pt. „Ocena wpływu Ovocystatyny na funkcje poznawcze

w zwierzęcych modelach zmian otępiennych”

wykonanej pod kierunkiem prof. dr hab. n. med. Joanny Rymaszewskiej

W ciągu ostatnich lat pojawiają się doniesienia sugerujące istotną rolę endogennej cystatyny C w przebiegu chorób wpływających na centralny układ nerwowy. W badaniach na dużej populacji powiązано niski poziom tego białka u osób w podeszłym wieku ze wzrostem ryzyka zachorowania na chorobę Alzheimera w kolejnych latach. Inne badania wykazały, że cystatyna C, poprzez hamowanie oligomeryzacji beta-amyloidu, może chronić mózg przed jego toksycznym działaniem.

Autor rozprawy podjął się eksperymentalnego sprawdzenia hipotezy, że Ovocystatyna - cystatyna uzyskana z białka jaj kurzych, może wpływać na zmiany funkcji poznawczych, charakterystyczne dla procesu otępiennego w chorobie Alzheimera. Badanie to jest pierwszym opracowaniem dotyczącym działania Ovocystatyny na funkcje poznawcze w chorobach neurodegeneracyjnych.

O aktualności wybranego tematu świadczy chociażby zebrana przez autora literatura, która w większości pochodzi z ostatniego dziesięciolecia, a ważkość tematu mierzyć można prognozami dotyczącymi dramatycznego wzrostu liczby osób z chorobami otępiennymi, jako skutku starzenia się społeczeństwa.

Przedłożona mi do recenzji rozprawa jest dziełem liczącym 136 stron. Jej układ jest zgodny z wymogami redagowania prac doktorskich. Zasadnicze rozdziały poprzedzone są wykazami skrótów, rycin i tabel. W zakończeniu zawarte są streszczenia w językach polskim i angielskim.

W liczącym 24 strony *Wstępie* Doktorant przedstawił podstawowe pojęcia dotyczące funkcji poznawczych i ich zaburzeń w procesie starzenia się. Omówił rodzaje, objawy oraz etiologię choroby Alzheimera, jak również modele badawcze wykorzystujące zwierzęta transgeniczne. Najobszerniejsza część wstępu dotyczy cystatyn, ich budowy, zróżnicowanych funkcji biologicznych, a przede wszystkim, ich udowodnionych, jak też i dyskutowanych ciągle związków z chorobami neurodegeneracyjnymi i ich roli w procesie neuroprotekcji. Przedstawiony we wstępie aktualny stan wiedzy nie pozostawia wątpliwości, co do zasadności podjęcia przedstawionych w pracy doktorskiej badań.

Biorąc pod uwagę związek poziomu endogennej cystatyny C z przebiegiem chorób neurodegeneracyjnych i opierając się na strukturalnym podobieństwie ludzkiej cystatyny C i wyizolowanej z białka jaja kurzego Ovocystatyny, jako główny cel swoich badań Doktorant przyjął określenie wpływu Ovocystatyny na funkcje poznawcze w eksperymentalnych modelach zwierzęcych. Zarówno cel pracy, jak i jej szczegółowe założenia wynikają logicznie z przedstawionego we wstępie przeglądu zagadnienia.

Badania prowadzono w doświadczeniach na młodych i starych szczurach oraz na zmodyfikowanych genetycznie myszach z chorobą Alzheimera, a plan doświadczenia znajduje uzasadnienie w cytowanej literaturze. Zastosowane testy behawioralne są klasycznymi metodami oceny deficytów pamięci u gryzoni i są adekwatne do założonego modelu eksperymentalnego. Zastosowane metody statystyczne są odpowiednie do analizy wyników w takim doświadczeniu.

Wyniki badań przedstawiono w postaci bogatej dokumentacji na 66 rycinach będących graficzną prezentacją danych liczbowych zamieszczonych w 19 tabelach stanowiących aneks do rozprawy. O poprawności użytego modelu eksperymentalnego świadczą wyniki dla grup placebo, zarówno szczurów młodych w stosunku do starych, jak i myszy z chorobą Alzheimera w stosunku do myszy typu dzikiego. W odniesieniu do prokognitywnego i przeciwołpępnego działania Ovocystatyny wyniki nie są jednoznaczne. U starych szczurów stwierdzono pewien statystycznie nieistotny trend mogący wskazywać na działanie prokognitywne większej dawki

preparatu podawanej dootrzewnowo. Preparat podawany tą samą drogą u myszy nie wywoływał żadnego efektu, natomiast podawany drogą pokarmową miał istotny wpływ na zahamowanie funkcji poznawczych u myszy z chorobą Alzheimera ocenianych w labiryncie wodnym.

Zważywszy na ogromną ilość prezentowanych wyników szczegółowych o, z konieczności, podobnym charakterze, brakowało mi na zakończenie rozdziału jakiegoś podsumowania, które by wypunktowało, na które z ocenianych parametrów, w którym z badanych modeli, Ovocystatyna działała, a na które - nie. Powyższą uwagę proszę traktować jako radę raczej, a nie krytykę.

W *Dyskusji* Autor skoncentrował się na omówieniu uzyskanych wyników szczegółowych w postaci parametrów testu, w odniesieniu do procesów uczenia się i pamięci. Odniósł się też do wyników podobnych doświadczeń nad działaniem cystatyny C. Autor przedstawił również krytycznie ograniczenia swojej pracy, które w mojej ocenie wynikają w głównej mierze z faktu, że jest to pierwsza praca dotycząca prokognitywnych działań Ovocystatyny, co z konieczności sprawia, że kwestie dawek i czasu ich podawania mogły być nie najlepiej trafione.

W oparciu o własne wyniki przeanalizowane w rozdziale *Dyskusja* Autor wysunął sześć wniosków. Wnioski odnoszą się do pytań postawionych w *Celach i założeniach pracy* i chociaż nie do końca potwierdzają założone hipotezy, to wskazują na uzasadnienie dalszych badań w tym obszarze. Chciałabym jednak zwrócić uwagę, że wniosek trzeci jest sformułowany, co najmniej, nieprecyzyjnie.

W całej rozprawie Autor cytuje 123 pozycji piśmiennictwa, z których 100 to prace angielskojęzyczne opublikowane w zdecydowanej większości w ostatniej dekadzie w czasopiśmie o zasięgu międzynarodowym. Prace zacytowane są w sposób poprawny i uzasadniony, potwierdzając pełne przygotowanie Doktoranta do zajmowania się podjętą tematyką.

Praca napisana jest zasadniczo w sposób zrozumiały i poprawny językowo, chociaż Autor nie uniknął kilku zdań zbyt zawiłych, czy wręcz zawierających błędy stylistyczne (*np. zdanie 2-gie na str.47, zdanie ostatnie ze str. 49, wiersz 14-ty na str. 51*).

Główne zastrzeżenie redakcyjne do ocenianej rozprawy, to nieuporządkowany sposób cytowania. W przypadku cytowania kilku prac jednocześnie ich kolejność powinna być ustalona według numerów z wykazu piśmiennictwa, *np. (6,12,14)* a nie *(12,14,6)* – str. 21, lub *(25, 33 34)*.

a nie (33,34,25) – str. 26 Zaznaczam, że to tylko dwa przykłady z wielu, które znalazłam w pracy. Ponadto, gdy jednocześnie cytuje się po raz pierwszy dwie lub więcej prac, powinny się one pojawić w wykazie w kolejności alfabetycznej, do zaakceptowania byłaby też chyba kolejność chronologiczna, byle konsekwentnie, a tu jest różnie. (Jako przykłady powyższego: na stronie 30 pojawia się jednocześnie po raz pierwszy cytacja prac (52, 53) – według wykazu piśmiennictwa 52 to *Kaur i Levy 2012*, a 53 to *Finckh i in. 2000*, na str. 31 mamy (58,59,60), co według wykazu -58 to *Babiloni i in. 2006*, 59 - *Monastero i in. 2005* a 60 to *Levy i in. 2006*).

Inną usterką redakcyjną jest umieszczenie podpisów nad rysunkami (ryciny 4 – 69), a nie jak przyjęte, pod nimi.

Z drobnych pomyłek edytorskich, chcę zwrócić uwagę na rozbieżność pomiędzy oznaczeniem położenia platformy w 14-tym dniu badania w Tabeli 2 (NE) i w tekście, na stronie 46 (NW). W Tabeli 3 natomiast, liczba n badanych myszy powinna być chyba 20 a nie 30, co można domniemywać z opisu.

Przedstawione powyżej uwagi krytyczne nie zmieniają pozytywnej oceny rozprawy, a ich celem jest przede wszystkim zwrócenie uwagi młodego naukowca na niektóre aspekty pomocne w dalszej pracy.

W podsumowaniu stwierdzam, że Doktorant zrealizował postawione sobie cele badawcze. Jego rozprawa doktorska przygotowana pod kierunkiem promotora prof. dr hab. Joanny Rymaszewskiej stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego i wykazuje opanowanie technik eksperymentalnych oraz wiedzę teoretyczną niezbędną do prowadzenia pracy naukowej.

Dysertacja będąca przedmiotem oceny spełnia ustawowe wymagania stawiane rozprawom doktorskim i wobec powyższego przedstawiam Wysokiej Radzie Wydziału Lekarskiego Kształcenia Podyplomowego Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu wniosek o przyjęcie rozprawy i dopuszczenie mgra Bartłomieja Stańczykiewicza do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

prof. dr. med. Hanna Trzcińska
