

**Formularz recenzji rozprawy doktorskiej
Wydziału Biologii
Uniwersytetu Jagiellońskiego**

Imię i nazwisko kandydata: Emilia Kosonowska

Tytuł rozprawy doktorskiej: Zmiany struktury tkanki nerwowej wywołane ogólnoustrojowym stanem zapalnym jako korelaty podatności na napady drgawkowe

Promotor: prof. dr hab. Zuzanna Setkowicz-Janeczko

Promotor pomocniczy/drugi promotor/kopromotor (jeżeli powołany): nd.

Recenzent: dr hab. Bożena Gabryel

1. **Wartość naukowa rozprawy**

a. Oryginalność badań (25-200 słów):

Badania opisane w rozprawie doktorskiej Pani Emilii Kosonowskiej oscylują wokół zagadnienia prekondycjonowania (in. hartowania, ang. *preconditioning*). Najogólniej rzecz ujmując, zjawisko to polega na poddawaniu narządu działaniu umiarkowanego szkodliwego bodźca mającego uruchamiać endogenne mechanizmy protekcyjne i indukować tolerancję na właściwy czynnik uszkodzający. W piśmiennictwie prace dotyczące pre-, a obecnie także post-, kondycjonowania dotyczą głównie hartowania organów najbardziej narażonych na uszkodzenia ischemiczno/reperfuzyjne, takich jak serce, mózg, wątroba czy nerki. Niewielka natomiast jest ilość prac stanowiących o możliwości hartowania mózgu bodźcami zapalnymi i zmniejszanie przez to jego podatności na napady drgawkowe. Biorąc zatem pod uwagę powyższe oraz fakt, że w przedstawionej do recenzji dysertacji badania prowadzono na własnym modelu doświadczalnym, a analizy wyników dokonano przy zastosowaniu rozbudowanego warsztatu badawczego należy je uznać za całkowicie oryginalne.

b. Wartość naukowa rozdziałów/artykułów (25-200 słów):

W tym miejscu chciałabym wyraźnie podkreślić, iż Doktorantka nie ma żadnego problemu z konwencją wywodu naukowego. Doktorantka precyzyjnie określa problem jaki zamierzała rozwiązać, ściśle przedstawia metodologię i wyniki badań oraz wnioskowanie rygorystycznie oparte na osiągniętych rezultatach i danych z piśmiennictwa. Z pewnością przyczynił się do tego fakt, opublikowania uzyskanych wyników (przynajmniej znacznej ich części) w dwóch bardzo dobrych artykułach w czasopismach z Listy Filadelfijskiej. Ponieważ rezultaty eksperymentów Doktorantki przeszły już trudny proces kwalifikowania do druku w prestiżowych czasopismach, to w zasadzie nie ma potrzeby ich ponownego wartościowania pod względem naukowym. Z obowiązku recenzenta wskażę jednak, w mojej opinii, trzy najistotniejsze obserwacje Doktorantki: (i) wykazanie, że podanie LPS szczurom w 30. dniu życia zmniejsza intensywność i czas trwania napadów drgawkowych wywołanych 30 dni później podaniem pilokarpiny; (ii) stwierdzenie, że wcześniejsze podanie LPS powoduje mniejsze uszkodzenie tkanki nerwowej po napadach drgawkowych; (iii) opisanie zmian morfologicznych różnych typów komórek w zależności od czasu w którym u szczurów wywołano przejściowy, ogólnoustrojowy stan zapalny.

2. **Wartość merytoryczna rozprawy**

(umiejętność wprowadzenia w tematykę badawczą i jasność sformułowanych hipotez badawczych, dobór metod badawczych i narzędzi statystycznych do analizy danych, sposób przedstawienia wyników, krytyczna analiza wyników i umiejętność ich interpretacji na tle literatury przedmiotu, jasność i poprawność wniosków) (25-200 słów):

Pod względem merytorycznym pracę Pani Emilii Kosonowskiej oceniam bardzo wysoko. Widać w niej duże kompetencje Doktorantki, znajomość metodologii i podejmowanego zagadnienia. Wstęp stanowi bardzo dobre wprowadzenie do dalszej części rozprawy. Autorka w kompleksowy sposób przedstawiła proces epileptogenezy, eksperymentalne modele padaczki i stanu zapalnego oraz korzystny i negatywny wpływ przebytego ogólnoustrojowego zapalenia na podatność na napady drgawkowe, uwzględniając kryterium wiekowe. W ten sposób Autorka jasno sformułowała cele badawcze i uzasadniła ich realizację na oryginalnym modelu doświadczalnym polegającym na wywołaniu przejściowego ogólnego stanu zapalnego przez podanie dootrzewnowe LPS szczurom na różnych etapach rozwoju (tj. w 6. i 30. dniu życia), a następnie indukcji w 60. dniu napadów drgawkowych przez podanie pilokarpiny.

Doktoranta starała się jak najbardziej pełnowymiarowo spojrzeć na postawiony problem badawczy poprzez przeprowadzenie analizy intensywności napadów drgawkowych, zastosowanie komputerowej analizy obrazu, metody ELISA i techniki Western blot. Wszystkie metody zostały precyzyjnie opisane. Co ważne, w dyskusji Doktorantka wskazuje jaki jest stan wiedzy odnośnie poruszanego aspektu badania, w którym konkretnie miejscu podjęte przez nią badania włączają się w aktualny nurt oraz jakie napotkane luki informacyjne uzupełniają uzyskane przez nią wyniki. Wnioski są jasno i poprawnie sformułowane. To wszystko sprawia, iż pracę czyta się z dużym zainteresowaniem i przyjemnością.

3. **Poprawność redakcyjna rozprawy**

(układ pracy, jasność stylu, szata graficzna itp.) (25-200 słów):

Układ pracy jest w zasadzie standardowy dla tego typu rozpraw. Bardzo dobrym rozwiązaniem, znacznie ułatwiającym recenzentowi analizę wyników było ich umieszczenie, wraz ze schematem doświadczenia i propozycją możliwego mechanizmu rozwoju tolerancji w mózgu po podaniu LPS, w oddzielnej części. Na pochwałę zasługuje niezwykła staranność Doktorantki zachowana przy całym opracowaniu rozprawy, tj. edycja tekstu, przejrzysty (choć jednocześnie specjalistyczny) styl, starannie dobrane obrazy histologiczne barwionych tkanek, czytelne wykresy itd.

4. **Uwagi krytyczne**

1. W całej rozprawie Autorka używa zapożyczonego angielskiego terminu "preconditioning". Tymczasem w polskim piśmiennictwie naukowym już od paru lat używa się terminu "prekondycjonowanie" lub "hartowanie".

2. W opisie wyników brakowało mi podania bezwzględnych wartości stężeń cytokin prozapalnych w osoczu.

3. Wstęp, str. 24. Doktorantka ogólnie wymienia "różne fenotypy" mikrogleju "z których jedne mogą mieć charakterystykę pro- a inne przeciwzapalną". W mojej opinii, komórki mikrogleju mogą zostać aktywowane głównie na dwa sposoby, skutkujące powstaniem formy klasycznej (M1) lub alternatywnej (M2). Klasyczna, prozapalna aktywacja mikrogleju (M1) związana jest *in vivo* z odpowiedzią na neuroinfekcje oraz czynniki bezpośrednio uszkodzające. Natomiast mikroglej aktywowany alternatywnie wykazuje cechy tzw. fenotypu M2, który wiąże się z jego funkcją

neuroprotekcijną. To jest o tyle istotne, iż prekondukcjonowanie (w tym z użyciem bodźca zapalnego jakim jest LPS) powoduje syntezę nowych białek i zmianę fenotypu mikrogleju na alternatywny co warunkuje zwiększoną tolerancję na uszkodzenie. Wykazano, że hartowanie LPS działając na zapalny fenotyp M1, powoduje jego „przesunięcie” w kierunku M2, czego efektem jest m.in. obniżenie produkcji IL-6 i TNF α .

4. W związku z powyższą uwagą pewien mój niedosyt budzi zatem fakt rozpatrywania przez Doktorantkę omawianych zmian w ekspresji białek tylko przez pryzmat astrocytów. A wiadomo przecież, że komórkami najbardziej odpowiadającymi na podanie LPS jest mikroglej. Stąd też, może warto by pomyśleć w przyszłości o określeniu wskaźników alternatywnej aktywacji tych komórek, tj. ekspresja receptorów dla fraktalkiny, receptorów dla mannozy czy arginazy I.

Te uwagi, mające być może w odbiorze zbyt subiektywny charakter, zawarłam jedynie z myślą o dalszym rozwoju naukowym Doktorantki i w żaden sposób nie rzutują one na moją bardzo pozytywną ocenę rozprawy.

5. **Ocena końcowa** (uzasadnienie 25-200 słów):

Przedstawiona do oceny praca ma charakter nowatorski i stanowi wartościowy wkład w badania dotyczące protekcyjnych efektów prekondukcjonowania w padaczce postrzegane głównie przez pryzmat komórek glejowych. Zaprezentowany w pracy szeroki zakres badań dowodzi znakomitej znajomości przez Doktorantkę warsztatu badawczego w zakresie badań behawioralnych, mikroskopowych i molekularnych.

Ja, niżej podpisana stwierdzam, że recenzowana rozprawa doktorska Pani **Emilii Kosonowskiej** spełnia warunki określone w art. 13.1 Ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U. nr 65 poz. 595 z późn. zmianami) i wnioskuję do Rady Wydziału Biologii Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie o dopuszczenie **Emilii Kosonowskiej** do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

TAK/NIE

Ja, niżej podpisana wnioskuję o wyróżnienie rozprawy doktorskiej.
Uzasadnienie wniosku (25-200 słów)

TAK/NIE

Projekt pracy oparty na ciekawym pomysłu badawczym wymagał zastosowania całego panelu metod eksperymentalnych, a co za tym idzie również ogromnego osobistego zaangażowania Doktorantki oraz współpracy zarówno w obrębie jednostki, jak i poza nią. W efekcie końcowym jego realizacja dostarczyła nowych, nieopisanych dotąd informacji tj. zmniejszenie napadów drgawkowych i efekt neuroprotekcyny u zwierząt traktowanych w 30.ym dniu życia przejściowym uogólnionym bodźcem zapalnym. Ponieważ zarówno podejście eksperymentalne, jak i jakość uzyskanych wyników znalazły już uznanie międzynarodowych gremiów naukowych to z oczywistą przyjemnością wnioskuję o wyróżnienie tej rozprawy.