



**WYDZIAŁ BIOLOGII
i OCHRONY
ŚRODOWISKA**

Uniwersytet Łódzki

Łódź, 9 marca 2018 r.

Prof. dr hab. Wanda Małgorzata Krajewska
Katedra Cytobiochemii UŁ

Ocena

pracy doktorskiej mgr Malwiny Lisek

**pt. Ocena zaburzeń neuronalnej homeostazy wapniowej i metabolizmu GABA
w oparciu o szczurzy model psychoz indukowanych ketaminą**

Praca doktorska mgr Malwiny Lisek wykonana została w Zakładzie Neurochemii Molekularnej Uniwersytetu Medycznego w Łodzi pod kierunkiem prof. dr hab. Ludmiły Żylińskiej i dr. Tomasza Boczka jako promotora pomocniczego. Stanowi ją spójny tematycznie cykl czterech, opublikowanych w latach 2015-2017, współautorskich prac, z których trzy są pracami eksperymentalnymi, a czwarta jest pracą przeglądową. Wszystkie prace opublikowane zostały w czasopiśmie z listy JCR o współczynniku oddziaływania IF od 2,18 do 4,56, tj. *Cell and Tissue Research*, *Frontiers in Cellular Neuroscience*, *Neurochemistry International*, *Neuroscience Letters*. Sumaryczny współczynnik oddziaływania IF wynosi 12,9, a liczba punktów MNiSW 105. Mgr M. Lisek jest pierwszym autorem w trzech pracach, pełniąc rolę autora korespondencyjnego w jednej z nich oraz drugim autorem w jednej pracy. Udział mgr M. Lisek w powstaniu tych prac, potwierdzony oświadczeniami współautorów, oszacowany jest na 80% w dwóch pracach i 65% oraz 35% w kolejnych pracach, co jednoznacznie wskazuje na Jej znaczącą rolę w ich realizacji i opracowaniu. Na podkreślenie zasługuje fakt, że w przypadku trzech z czterech prac składających się na doktorat udział mgr M. Lisek jest dominujący. Jakkolwiek nie jest to wymogiem formalnym, a jedynie dobrym zwyczajem, publikacje stanowiące rozprawę doktorską opatrzone zostały 19-stronicowym wprowadzeniem zawierającym hipotezę badawczą i opis przeprowadzonych badań, wyjaśnienia stosowanych skrótów, wybrane pozycje literatury oraz streszczenia w języku polskim i angielskim. Załączone są również oświadczenia współautorów i wykaz całego dorobku publikacyjnego Doktorantki, który bez wątpienia jest potwierdzeniem Jej aktywności naukowej. Mgr M. Lisek poza czterema pracami składającymi się na rozprawę doktorską jest

współautorem kolejnych pięciu prac, wszystkie opublikowane w czasopiśmie indeksowanym przez *JCR*, zajmując wśród autorów wysoką, drugą w przypadku czterech prac lub trzecią w przypadku jednej pracy, pozycję.

Celem badań przedstawionych w pracy doktorskiej była ocena wpływu ketaminy na procesy neurotransmisji. Zadania badawcze obejmowały analizę na poziomie molekularnym mechanizmów odpowiedzialnych za homeostazę wapniową i korelację ze zmianami behawioralnymi, syntezę i wydzielanie glutaminianu oraz zmiany metabolizmu γ -aminomaślanu (GABA). Dane literaturowe wskazują, że ketamina, pochodna fencyklidyny, będąca niekompetycyjnym inhibitorem receptorów glutaminergicznych NMDA, należąca do grupy szybko działających leków znieczulenia ogólnego, charakteryzuje się szerokim spektrum działań niepożądanych, w tym halucynogennych, analgetycznych i dysocjacyjnych. Psychozomimetyczne działanie ketaminy manifestuje się efektami przypominającymi schizofrenię, co wykorzystywane jest w badaniach naukowych do poszukiwania molekularnych podstaw zaburzeń neurotransmisji. Hipoteza glutaminianowa schizofrenii zakłada, że u podstaw patofizjologii tej choroby leży hipofunkcja receptorów NMDA na neuronach GABAergicznym.

Badania przedstawione w pracy doktorskiej przeprowadzono na indukowanym ketaminą modelu psychozy u szczurów, która podawana była w dawkach subanestetycznych. Eksperymenty zostały prawidłowo zaplanowane i profesjonalnie wykonane za pomocą nowoczesnych, adekwatnie dobranych technik badawczych. Do najważniejszych wyników zawartych w opublikowanych pracach należy wykazanie, że w odpowiedzi na ketaminę ma miejsce:

- wzrost cytozolowego poziomu wapnia w badanych obszarach mózgu, tj. w korze, hipokampie, prążkowie i mózdzku, który w przypadku kory i prążkowie korelował z hiperaktywnością motoryczną,
- swoista deregulacja ekspresji genów odpowiedzialnych za gospodarkę wapniową komórek nerwowych, tj. systemu napływu „on” i usuwania „off” wapnia,
- inhibicja aktywności pompy wapniowej PMCA należącej do rodziny ATPaz, która wydaje się być zjawiskiem powszechnym, a nie ograniczonym do określonych struktur mózgu i może stanowić jedną z najważniejszych przyczyn zaburzeń homeostazy wapnia,
- swoista obszarowo interakcja białka PSD95, odgrywającego zasadniczą rolę w tworzeniu aktywnych kompleksów w błonie komórkowej, z izoformą pompy wapniowej PMCA4 i podjednostkami receptora NMDA

- indukcja ekspresji transporterów VGLUT i EAAT2 i uwalnianie glutaminianu,
- zaburzenie metabolizmu GABA w funkcjonalnie odległych regionach mózgu, co może stanowić potencjalny mechanizm adaptacji neuronów w warunkach hipofunkcji receptorów NMDA.

Uzyskanie i prezentowane w opublikowanych pracach wyniki mają niepodważalną wartość poznawczą. Wskazują, że ketamina oddziałuje zarówno bezpośrednio na systemy odpowiedzialne za homeostazę wapnia, jak i pośrednio na sygnalizację wapniową. Inhibicja pompy wapniowej PMCA przez ketaminę i wzrost podwyższonego poziomu wapnia prowadzi do zaburzeń w szlakach glutaminergicznych i GABAergicznych. Badania zostały szczegółowo opisane w trzech oryginalnych pracach wchodzących w skład rozprawy doktorskiej (*Cell Tissue Res.* 2016; *Front. Cell. Neurosci.* 2017; *Neurochem. Int.* 2015), zarówno pod względem metod eksperymentalnych, jak i prezentacji oraz merytorycznej i twórczej dyskusji uzyskanych wyników. Dyskusję w jednej z prac (*Front. Cell. Neurosci.* 2017) wzbogacono nawet poglądowy schemat przedstawiający zaburzenia neurotransmisji w obecności ketaminy. Prace te nie budzą żadnych zastrzeżeń. Podlegały one już skrupulatnej ocenie przez specjalistów, tj. recenzentów i wydawców renomowanych czasopism o zasięgu międzynarodowym.

Wykorzystywany w pracy model badawczy psychozy przypominającej schizofrenię pozwala niewątpliwie na przybliżenie naszej wiedzy odnośnie do patofizjologii tej choroby, czego dowodem jest oceniana praca doktorska. Nasuwa się pytanie czy model ten jest również wykorzystywany w poszukiwaniu nowych strategii psychofarmakologicznych mających na celu przywrócenie równowagi w układzie glutaminergicznym. Prosiłabym Doktorantkę o przedstawienie wiedzy na ten temat podczas publicznej obrony.

Czwarta pozycja cyklu składającego się na rozprawę doktorską, opublikowana w 2017 roku w *Neuroscience Letters*, jest anglojęzyczną pracą przeglądową, w której w oparciu o dostępną literaturę przedmiotu i wyniki własne w przejrzysty, kompetentny sposób przedstawione jest znaczenie wapnia i sygnalizacji wapniowej w chorobach psychicznych, ze szczególnym uwzględnieniem pompy wapniowej PMCA i oddziałujących z nią białek w przypadku schizofrenii i choroby dwubiegunowej. Praca ta stanowi doskonale zarówno wprowadzenie do prezentowanej problematyki badawczej, jak i podsumowanie przeprowadzonych badań.

Wniosek końcowy

Pracę doktorską mgr Malwiny Lisek pt. „Ocena zaburzeń neuronalnej homeostazy wapniowej i metabolizmu GABA w oparciu o szczyrzy model psychoz indukowanych

ketaminą” oceniam w pełni pozytywnie. Przedstawione publikacje zawierają wyniki nowatorskich poszukiwań i stanowią istotny wkład do wiedzy odnośnie do mechanizmów neurotransmisji i ich zaburzeń w psychozie indukowanej antagonistą receptorów NMDA oraz wskazują na opanowanie bogatego warsztatu badawczego. Stwierdzam, że praca doktorska mgr Malwiny Lisek spełnia wymogi art. 13 ustawy o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki z dnia 14 marca 2003 roku z późniejszymi zmianami (Dz. U. nr 65, poz. 595 z póź. zm.; Dz. U. z 27 września 2017 poz. 1789, tekst jednolity). Zwracam się zatem do Wysokiej Rady Wydziału Nauk o Zdrowiu Uniwersytetu Medycznego w Łodzi o przyjęcie rozprawy i dopuszczenie mgr Malwiny Lisek do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Biorąc pod uwagę oryginalność uzyskanych wyników, które opublikowane zostały w prestiżowych czasopismach z listy *JCR* i ich znaczącą wartość poznawczą w zakresie szeroko rozumianej neurobiologii, pracę należy uznać za wyróżniającą.

M. M. Dworak