

Prof. dr hab. Barbara Dołęgowska  
Katedra Mikrobiologii, Immunologii  
i Medycyny Laboratoryjnej  
Pomorski Uniwersytet Medyczny w Szczecinie  
Al. Powstańców Wlkp. 72  
70-111 Szczecin  
Tel.: 697 909 238  
E-mail: [barbara.dolegowska@pum.edu.pl](mailto:barbara.dolegowska@pum.edu.pl)

Szczecin, 06.05.2019 r.

**Recenzja rozprawy doktorskiej Mgr Tomasza Radzika pt.  
„Wpływ zaburzeń homeostazy wapniowej na procesy sygnalizacji indukowane  
chemokiną CCL5 w różnicowanych komórkach PC12”**

**Promotor: Prof. dr hab. Ludmiła Żylińska**

Schorzenia neurologiczne są przeważnie postępującymi chorobami przewlekłymi, które nie poddają się leczeniu farmakologicznemu. Choroby, których objawy są konsekwencją postępującej utraty komórek nerwowych, klasyfikujemy jako choroby neurodegeneracyjne. Starzenie się organizmu jest nieodwracalnym procesem fizjologicznym, który sprzyja ich występowaniu. Są to choroba Parkinsona, choroba Alzheimerera, płasawica Huntingtona czy stwardnienie zanikowe boczne. Wyjaśnienie ich przyczyny jest bardzo trudne i stanowi cel badań podejmowanych przez wielu naukowców na całym świecie, doszukujących się przede wszystkim podłoża metabolicznego tych chorób. Według jednej z hipotez ważną rolę w starzeniu się mózgu i rozwoju chorób neurodegeneracyjnych odgrywają zmiany w procesach regulowanych przez jony wapniowe.

Jony wapniowe uczestniczą w inicjowaniu i regulowaniu wielu procesów subkomórkowych. Ich stężenie podlega bardzo ścisłej kontroli – także w komórkach nerwowych. Zaburzenia homeostazy wapniowej są przyczyną wielu nieprawidłowości w funkcjonowaniu komórek i mogą prowadzić do ich śmierci.

Problem podjęty przez Pana Mgr Tomasza Radzika jest bardzo aktualny. Badania skutków zaburzeń homeostazy wapniowej w komórkach będących modelem komórek nerwowych dają możliwość pogłębienia wiedzy o procesach leżących u podłoża chorób neurodegeneracyjnych, jak również pozwalają na poszukiwanie skutecznych w tych chorobach środków leczniczych.

Praca została prawidłowo zaplanowana i zrealizowana. Rozprawa ma typowy układ, na który składają się: wstęp, cel pracy, materiały i metody, wyniki, dyskusja, wnioski,

streszczenie w języku polskim i angielskim oraz piśmiennictwo. Rozprawa została przedstawiona na 92 stronach, zawiera 22 ryciny i 3 tabele. Pomiędzy poszczególnymi częściami pracy zostały zachowane właściwe proporcje. Rozprawa została napisana bardzo starannie. Spis treści, tabel i rycin umożliwiają jej szybkie przeglądanie i powrót do najbardziej interesujących fragmentów.

Wstęp poświęcony został omówieniu zagadnień związanych z tematem pracy oraz uzasadnieniu celowości podjętych badań. Autor bardzo szczegółowo omawia w nim regulację homeostazy wapniowej w komórkach nerwowych, mechanizmy transportowe i białkowe bufory wapniowe odpowiedzialne za utrzymanie prawidłowego subkomórkowego stężenia jonów wapniowych oraz jego zmian w starzejącym się mózgu. Doktorant w pierwszej części swojej rozprawy przedstawia także chemokiny działające na komórki za pośrednictwem swoistych receptorów, szczególnie dużo uwagi poświęcając chemokinie CCL5. Rozdział ten świadczy o bardzo gruntownym zapoznaniu się z problematyką dotyczącą podjętych badań.

Celem rozprawy była analiza funkcjonalnych skutków zaburzeń homeostazy wapniowej w komórkach PC12, wywołanych zmniejszeniem ekspresji izoform plazmatycznej ATP-azy wapniowej (PMCA) w odpowiedzi na stymulację chemokina CCL5. Badania obejmowały ocenę wpływu blokowania ekspresji izoform PMCA na liczbę i lokalizację komórkową receptorów chemokiny CCL5, ocenę korelacji pomiędzy blokowaniem izoform PMCA i zmianą intensywności sygnału wapniowego pod wpływem CCL5, analizę ścieżki sygnałowej zainicjowanej aktywacją receptorów CCL5 oraz zbadanie wpływu zaburzeń homeostazy wapniowej na ekspresję receptorów IP3 (inozytolo-1,4,5-trifosforanu).

Rozdział „Materiały i metody” zawiera opis hodowli komórek linii PC12 stanowiących model badawczy w badaniach podjętych przez Doktoranta. Poszczególne etapy pracy zaplanowane i zrealizowane przez Pana Mgr Radzika wymagały bardzo dobrej znajomości warsztatu badawczego obejmującego wiele trudnych i skomplikowanych procedur. Ich szczegółowy opis z pewnością będzie mógł posłużyć naukowcom chcącym w przyszłości powtórzyć i/lub kontynuować badania zrealizowane przez Autora. Pewien niedosyt budzi jednak brak informacji czy kolejne etapy badań były realizowane jednorazowo czy były powtórzone – ile razy? Brakuje również informacji o rodzaju wykonanych analiz statystycznych i programie wykorzystanym do ich przeprowadzenia.

W kolejnym rozdziale Autor szczegółowo przedstawia wyniki swoich badań. Ta część rozprawy zawiera wiele interesujących rycin. Niestety nie wszystkie zostały zacytowane w tekście. Opisy pod rycinami zawierają bardzo ogólną informację o użytych do analizy testach statystycznych – znanych jest wiele testów ANOVA.

Kolejny rozdział – „Dyskusja” dowodzi bardzo dobrej znajomości tematu i znakomitej orientacji w aktualnym i bardzo obszernym piśmiennictwie dotyczącym analizowanych przez Doktoranta tematów badawczych. Dyskusja jest zdecydowanie najmocniejszą stroną rozprawy i świadczy o dużych zdolnościach analitycznych i interpretacyjnych badacza.

Przedstawione wnioski stanowią odpowiedź na założone cele. Autor stwierdził, że zaburzenie homeostazy wapniowej spowodowane zmniejszeniem liczby izoform plazmatycznej ATP-azy wapniowej - drugiej (PMCA2) i trzeciej (PMCA3), wpływa na odpowiedź komórek PC12 na chemokinę prozapalną CCL5. Zmiana ekspresji receptorów dla chemokin (CCR1, CCR3 i CCR5) oraz izoform receptora IP<sub>3</sub>R może być przejawem adaptacji komórek z zaburzoną homeostazą wapniową na sygnalizację powodującą opróżnienie magazynów w siateczce śródplazmatycznej.

Co więcej wyniki badań mogą wskazywać na szczególną rolę pompy PMCA2 skutecznie przeciwdziałającej skutkom wzrostu sygnału wapniowego w warunkach fizjologicznych – także w komórkach nerwowych. Osłabienie jej działania w starzejącym się mózgu może być jedną z przyczyn jego zwiększonej wrażliwości na działanie czynników wzbudzających sygnał wapniowy.

Uwagi zawarte w niniejszej recenzji w żadnej mierze nie zmniejszają ogromnej wartości pracy. Rozprawa Pana Mgr Tomasza Radzika jest poświęcona niezmiernie ważnej tematyce. Realizacja badań wymagała olbrzymiego nakładu pracy i wielu umiejętności.

Praca stanowi samodzielny dorobek naukowy. Uzyskane wyniki stanowią istotny wkład w badania nad patogenezą chorób neurodegeneracyjnych. Rezultaty pracy Pana Mgr Tomasza Radzika zostały opublikowane w czasopiśmie BioMed Research International (IF 2,55; MNiSW 25.000).

**Przedstawiona mi do oceny rozprawa doktorska spełnia warunki określone w art. 13 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. zm.).**

**Wnoszę do Wysokiej Rady Wydziału Nauk o Zdrowiu Uniwersytetu Medycznego w Łodzi o dopuszczenie Pana Mgr Tomasza Radzika do dalszych etapów przewodu doktorskiego i jednocześnie wnioskuję o wyróżnienie pracy.**

Z wyrazami szacunku,

*Barbara Dąbrowska*