

Dr hab. Małgorzata Ożgo, prof. ZUT Szczecin, dnia 3 sierpnia 2023 roku
Katedra Fizjologii, Cytobiologii i Proteomiki
Wydział Biotechnologii i Hodowli Zwierząt
Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie

OCENA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

Mgr Anety Jaszczyk pt. "Effect of prolonged treatment with corticosterone on brain transcriptome in laboratory mice" wykonanej pod kierunkiem naukowym:

Prof. dr hab. Tadeusza Jezierskiego, oraz
promotora pomocniczego dra Grzegorza Juszcza,
z Instytutu Genetyki i Biotechnologii Zwierząt
Polskiej Akademii Nauk w Jastrzębcu

Podwzgórze, gruczołowa część przysadki oraz kora nadnerczy to istotne ogniwa systemu regulującego wydzielanie kortykoidów, układów odpowiedzialnych za zespół reakcji adaptacyjnych związanych z regulacją i integralnością czynności całego organizmu. Kluczowym składnikiem systemu odpowiedzialnego za stres są hormony kory nadnerczy glukokortykoidy m.in. kortyzol, kortyzon czy kortykosteron. Hormony te zaangażowane są w mechanizmy leżące u podstaw zaburzeń związanych z wpływem stresu przebiegającego w różnych jednostkach chorobowych np. zespół stresu pourazowego czy depresja. Glikokortykoidy wywołują również zmiany metaboliczne i narządowe. Mimo jednak znanych wielu funkcji glikokortykoidów niewiele jest informacji związanych z wpływem glikokortykoidów na metabolizm i funkcję mózgu. Ponad to analiza piśmiennictwa wskazuje, że badania wpływu tych hormonów na metabolizm i inne reakcje tkanek były dokonywane w ciągu pierwszych 2-3 godzin od ich podania. Dlatego podjęte przez Doktorantkę badania wpływu podawanego kortykosteronu w dłuższej perspektywie czasowej, niż pierwsze 2-3 godziny, w okresie aktywności okołodobowej wydają się być w pełni uzasadnione. Dają one bardzo ciekawy obraz procesów zachodzących w mózgu traktowanego całodziennym stresem czy przyjmowaniem glikokortykosteroidów oraz w późniejszym okresie spoczynku związanym z cyklem światło-ciemność.

Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska mgr Anety Jaszczyk stanowi jednolity tematycznie cykl trzech prac pełno tekstowych: jednej przeglądowej i dwóch oryginalnych, opublikowanych w indeksowanych czasopismach. Zgodne oświadczenie współautorów wskazuje na to, że wkład Kandydatki zarówno w opracowanie koncepcji badań, jak ich wykonanie jest dominujący lub znaczący. Doktorantka jest pierwszym autorem we wszystkich 3 pracach. Wartość naukowa przedstawionych i opublikowanych prac nie pozostawia wątpliwości. Dobór publikacji układa się w jedną spójną całość tematyczną. Wspólnym celem analizowanych prac i całokształtu doktoratu było zbadanie wpływu długotrwałego działania hormonu glikokortykoidowego (kortykosteronu) na zmiany transkryptomyczne w hipokampie myszy laboratoryjnych oraz powiązanie ich z procesami biologicznymi zachodzącymi w mózgu.

Sumaryczny wskaźnik oddziaływania (IF) publikacji wchodzących w skład rozprawy doktorskiej wynosi **18,593** a punktacja Ministerstwa Edukacji i Nauki **440** punktów.

Ocenie podlegają następujące prace:

1. **Aneta Jaszczyk**, Grzegorz R. Juszcak. Glucocorticoids, metabolism, and brain activity. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 2021 DOI: <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2021.03.007>, IF = 9.052 Punkty MNIe = 200
2. **Aneta Jaszczyk**, Adrian M. Stankiewicz, Grzegorz R. Juszcak. Dissection of mouse hippocampus with its dorsal, intermediate, and ventral subdivisions combined with molecular validation. *Brain Sciences*, 2022 DOI: <https://doi.org/10.3390/brainsci12060799> IF = 3.333 Punkty MNIe = 100
3. **Aneta Jaszczyk**, Adrian M. Stankiewicz, Joanna Goscik, Alicja Majewska, Tadeusz Jezierski, Grzegorz R. Juszcak. Overnight corticosterone and gene expression in mouse hippocampus. *International Journal of Molecule Sciences*, 2023 DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms24032828> IF = 6.208, Punkty MNIe = 140p

W pracy poglądowej pt. *Glucocorticoids, metabolism, and brain activity* Doktorantka dokonuje opisu aktualnego stanu wiedzy na temat efektów biologicznych wywoływanych przez glikokortykoidy w mózgu oraz identyfikuje najważniejsze nie zbadane dotąd aspekty w dostępnej literaturze. Autorka podkreśla wpływ glikokortykoidów na wiele różnych procesów fizjologicznych, a w szczególności na produkcję energii przez te hormony, co wiąże się z ich mitochondrialnym

pochodzeniem. Autorka formułując cel badawczy doktoratu zwróciła uwagę - dokonując analizy piśmiennictwa w pracy poglądowej, na wiele toczących się badań związanych z wpływem glikokortykoidów na metabolizm tkanek obwodowych, w przeciwieństwie do znacznie mniej podejmowanego tematu wpływu tych hormonów na metabolizm mózgu. Ponadto dane analizy piśmiennictwa wskazują, że wszystkie badania realizowane zarówno na zwierzętach jak i ludziach koncentrowały się głównie na reakcjach mózgu w ciągu pierwszych godzin po podaniu hormonów (3-4 godziny). Brak jest natomiast badań związanych z efektami ich działania od 6 do 12 godzin od ich podania. Było to niewątpliwie przesłanką do podjęcia przez Doktorantkę kolejnych badań związanych z procesami biologicznymi zachodzącymi w mózgu. Całość pracy można traktować jako najbardziej aktualne kompendium wiedzy związane z wpływem glikokortykoidów na metabolizm w mózgu.

Praca poglądowa związana z wpływem glikokortykoidów na wywoływane efekty biologiczne w mózgu doskonale wprowadza w kolejne prace badawcze Doktorantki o charakterze eksperymentalnym. W kolejnej pracy nt. *Dissection of mouse hippocampus with its dorsal, intermediate, and ventral subdivisions combined with molecular validation* celem było opracowanie i walidacja metody pobierania hipokampu pozwalającej na zebranie wysokiej jakości próbek do eksperymentów transkryptomicznych. Mgr Aneta Jaszczyk jako wiodący Autor pracy podjęła się przygotowania i przetestowania metody usuwania zanieczyszczeń tkankowych (zanieczyszczenie splotem naczyniówkowym) w trakcie pobierania hipokampu. Należy podkreślić, iż wiele metod badawczych stosowanych w neurobiologii molekularnej wymaga preparacji hipokampa, jednak wciąż słabo poznanym problemem jest zanieczyszczenie tkanek podczas preparacji mózgu. Dlatego sprawdzona i powtarzalna metoda pozwalająca na preparowanie hipokampa ze świeżego mózgu myszy z precyzją wystarczającą do wiarygodnego usunięcia splotu naczyniówkowego stała się asumptem do podjęcia przez Autorkę tych badań. Precyzję i dokładność preparowania, jako markera splotu naczyniówkowego Doktorantka oceniała z wykorzystaniem ekspresji genu transtyretyny. Ponadto dokonała walidacji podziału całego hipokampa, co ma bardzo duże znaczenie ze względu na różną funkcjonalność poszczególnych jego części. Badania wykonane były za zgodą II Lokalnej Komisji Etycznej w Warszawie. Sposób opisu w pracy całego protokołu oraz dyskusja wskazuje na znakomitą orientację Autorki w temacie, spore doświadczenie praktyczne. oraz kompetentny warsztat analityczny. Chciałabym również w tym miejscu wyrazić

swoje duże uznanie dla Doktorantki i Promotora oraz całego zespołu za podjęcie się opracowania szczegółowego protokołu, który będzie bardzo istotny w eksperymentach molekularnych przeprowadzanych na hipokampie i/lub jego częściach oraz niewątpliwie może stanowić alternatywę dla mikrodysekcji laserowej. Przeprowadzony eksperyment potwierdza, że metoda i cały protokół przepracowany przez Autorkę i zespół pozwala na pobranie dobrze zachowanych hipokampów ze śladową ilością splotu naczyniówkowego.

Przedstawiony opis procedury w publikacji nr 2 znakomicie wprowadza w kolejną opracowaną i opublikowaną pracę związaną z wpływem kortykosteronu na transkryptom w hipokampie. Celem tej pracy było zbadanie wpływu podwyższonego poziomu glikokortykoidów na zmiany transkryptomiczne w hipokampie myszy po 12 godzinnym podawaniu kortykosteronu i podczas późniejszego okresu spoczynku, kiedy poziom kortykosteronu wraca do poziomu wyjściowego. Uzyskane wyniki przez Autorkę wskazują, że glikokortykoidy wywołują różnorodny efekt transkryptomiczny pod względem czasu zaniku, a zmiany w ekspresji genów reagujących na glikokortykoidy zależą od czasu trwania okresu spoczynku. Jest to interesująca obserwacja poczyniona przez Doktorantkę, która stwierdziła, że leczenie kortykosteronem może wywoływać opóźnione efekty transkryptomiczne, które będą miały znaczenie w momencie gdy stężenie hormonu we krwi będzie kształtowało się na poziomie wartości wyjściowej. Należy również podkreślić, iż zastosowany w pracy model badawczy może mieć bardzo istotne znaczenie w badaniu mechanizmów leżących u podstaw reakcji na stres. Założona hipoteza pracy przez Autorkę przedstawiona w autoreferacie została w pełni potwierdzona właśnie w tej pracy.

Podsumowując uzyskane wyniki i wnioski wszystkich prac prezentowanych przez Doktorantkę oraz analizując autoreferat pracy można stwierdzić, że Autorka ma bardzo ugruntowaną wiedzę związaną z gospodarką hormonalną ustroju, a w szczególności z wpływem glikokortykoidów na procesy biologiczne zachodzące w mózgu oraz bardzo kompetentny warsztat naukowy oparty o nowoczesne techniki biologii molekularnej.

Przedstawione do recenzji publikacje są jednorodnie tematycznie oraz stanowią wspólny cykl, który wpisuje się w podstawę dysertacji doktorskiej. We wszystkich pracach pani mgr Aneta Jaszczyk jest pierwszym i wiodącym autorem. Na prawidłowość metodyki oraz bardzo wysokiej jakości uzyskanych wyników wskazuje

fakt akceptacji przez recenzentów publikacji w renomowanych czasopismach o wysokim stopniu oddziaływania.

Przedstawiona mi do recenzji rozprawa doktorska mgr Anety Jaszczyk spełnia wszystkie warunki stawiane rozprawom doktorskim na stopień doktora zawarte w Ustawie Prawo o Szkolnictwie Wyższym i Nauce. W związku z powyższym zwracam się do rady Naukowej Instytutu Genetyki i Biotechnologii Zwierząt PAN w Jastrzębcu **o dopuszczenie Pani mgr Anety Jaszczyk do publicznej obrony pracy doktorskiej.**

Jednocześnie mając na uwadze oryginalny i nowatorski temat badawczy, istotne przesłanki dla praktyki w biologii molekularnej (neurobiologii molekularnej) oraz sumaryczny **IF= 18,59** trzech publikacji wchodzących w skład dysertacji zwracam się z prośbą o wyróżnienie niniejszej rozprawy doktorskiej.



Dr hab. inż. Małgorzata Ożgo, prof. ZUT