

Gdańsk, 30 sierpnia 2021

RECENZJA

rozprawy doktorskiej mgr *Iwony Majcher-Maślanki* pt. „Wpływ wczesnego stresu postnatalnego (separacja od matki) na procesy plastyczności i funkcje kory przedczołowej w okresie adolescencji” wykonana prośbą Rady Naukowej Instytutu Farmakologii im. Jerzego Maja Polskiej Akademii Nauk w Krakowie.

Wykonana przez mgr Iwonę Majchrzak-Maślankę rozprawa doktorska oparta jest o wyniki uzyskane w cyklu publikacji oraz uzupełniona przez wyniki własne niepublikowane umieszczone w starannie przygotowanym omówieniu rozprawy doktorskiej. Podstawą rozprawy są trzy publikacje:

1. **Majcher-Maślanka I**, Solarz, A. Chocyk A. Maternal separation disturbs postnatal development and the maturation of the medial prefrontal cortex in adolescent rats. *Neuroscience*. 2019: 423, 131-147.
2. **Majcher-Maślanka I**, Solarz A, Wędzony K, Chocyk A. Previous early-life stress modifies acute corticosterone-induced synaptic plasticity in the medial prefrontal cortex of adolescent rats. *Neuroscience*, 2018: 379, 316-333.
3. **Majcher-Maślanka I**, Solarz A, Chocyk A. The impact of early-life stress on corticosteroid carrier protein levels and 11b-hydroxysteroid dehydrogenase 1 expression in adolescent rats. *Pharmacological Report*, 2019: 71, 347-350.

We wszystkich publikacjach Doktorantka jest pierwszym autorem co nie budzi wątpliwości do jej wiodącej roli w ich powstanie. Łączny IF dla publikacji to **8,941 i 205** punktów Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego. Wybrane przez Doktorantkę czasopisma należą do czołówki czasopism naukowych – *Neuroscience* - Q2 za rok 2019;



Pharmacological Report – Q2 za 2019 rok oraz Neuroscience - Q4 za rok 2018. Doktorantka jest współautorem 10 publikacji naukowych, które cytowane były 181 razy (172 bez autocytowań) a jej indeks Hirscha wynosi – 7. Przedstawione do rozprawy publikacje cytowane były 29 razy w piśmiennictwie światowym.

Tematyka badań mgr. Iwony Majcher-Maślanki dotyczy wciąż niezwykle aktualnego problemu związanego z wpływem stresu na rozwój mózgowia we wczesnym okresie rozwoju i dojrzewania oraz ich konsekwencji dla osobnika dorosłego. Zmiany występujące w ośrodkowym układzie nerwowym pod wpływem zarówno ostrego jak i przewlekłego stresu są przedmiotem badań od wielu lat. Analizowana jest zarówno liczba i wielkości neuronów znajdujących się w strukturach układu limbicznego, zmiany ekspresji neuroprzekazników i białek strukturalnych, ekspresji genów, ale też zmian w komórkach glejowych. Coraz częściej zwraca się uwagę na czas w jakim działa stres i to nie tylko w okresie pourodzeniowym ale co ważniejsze również w trakcie rozwoju płodowego.

Dlatego też Doktorantka postawiła sobie za cel zbadanie:

1. wpływu wczesnego stresu (separacji potomstwa od matki) na zjawisko apoptozy i proliferacji kształtujące ostateczną liczbę neuronów i komórek glejowych (astrocytów, oligodendrocytów, komórek NG2 i mikrogleju) w korze przedczołowej i istocie białej płata czołowego (kleszcze mniejsze ciała modelowatego) oraz w strefie przykomorowej u szczurów w okresie adolescencji (publikacja 1). Badania uzupełnione zostały przez ocenę ekspresji genów związanych z apoptozą, z funkcją komórki mikroglejowej jak również aktywacją białek związanych z wewnątrzkomórkowymi procesami zaangażowanymi w przeżycie komórek i zaprogramowaną śmierć.
2. wpływu wczesnego stresu na zachowanie zwierząt w stresie ostrym lub przewlekłym, w okresie dojrzewania zwierząt po jednorazowym podaniu kortykosteronu (CORT) (publikacja 2). W tym etapie oceniono wpływ ostrego stresu na poziom kortykosteroidów w surowicy krwi, ekspresję genów i białek zaangażowanych w

plastyczność synaptyczną w przyśrodkowej korze czołowej oraz jaki wpływ te zmiany mają na długotrwałe wzmocnienie synaptyczne w tej części kory.

3. wpływu wczesnego stresu na działanie glikokortykoidów (publikacja 3). W pracy tej oceniono poziom białek wiążących glikokortykoidy (CBG i albuminy w surowicy krwi), poziom ekspresji mRNA i białek CBG, albuminy i 11 β -HSD1 w wątrobie oraz przyśrodkowej korze czołowej jak i hipokampie.
4. wpływu wczesnego ostrego stresu na zachowanie zwierząt w okresie dojrzewania (badania nie opublikowane, ale szczegółowo zaprezentowane w omówieniu doktoratu). Doktorantka wykorzystała w tych badaniach test wymuszonego pływania, ocenę aktywności lokomotorycznej oraz test eksploracji jasnego/ciemnego pola po jednorazowym zastosowaniu kortykosterydów.

Doktorantka jako model wczesnego stresu wykorzystała powszechnie używany test separacji osesków szczurzych od matki w pierwszych 2 tygodniach życia pourodzeniowego.

Wyniki przeprowadzonych przez Doktorantkę badań wykazały, że ostry wczesny stres wywiera istotny wpływ na rozwój okolic limbicznych kory czołowej zarówno przez zmiany w budowie morfologicznej, które utrzymywały się do okresu dojrzewania zwierząt, wpływając na zakłócenie procesów neurorozwojowej apoptozy i proliferacji. Zmiana struktury morfologicznej kory przez zaburzenie procesów proliferacji i zaprogramowanej śmierci neuronów powodowała niedostosowanie odpowiedzi tej kory, ale prawdopodobnie również innych okolic związanych z reakcjami emocjonalnymi tkj. ciało migdałowe, hipokamp czy podwzgórze do pojawiających się w okresie dojrzewania wyzwań czy reakcji stresowych. Zmiany morfologiczne jak wykazała Doktorantka przekładały się na zmiany biochemiczne i elektrofizjologiczne w sytuacji stresogennej. Ponadto, w przypadku wielu badanych przez Doktorantkę parametrów, takich jak indukcja mRNA i białka cFos i Arc oraz ekspresja mRNA BDNF, GDNF i NCAM, szczury poddane wczesnemu stresowi wykazywały zmniejszoną odpowiedź lub wręcz brak odpowiedzi na ostre podanie rozpuszczalnika (VEH) lub CORT w zestawieniu z grupą kontrolną. Obserwacje morfologiczne potwierdzone zostały również badaniami behawioralnymi, które wykazały zwiększoną lękliwość zwierząt poddanych

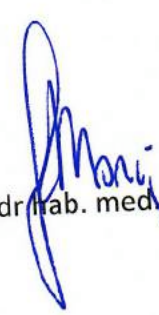
wczesnemu stresowi. Co ciekawe uzyskane przez Doktorantkę wyniki, jednoznacznie wykazały, że wczesny stres prowadzi do obniżenia poziomu kortykosterydów w surowicy krwi zwierząt, na co nie wpływa egzogenne podanie tych substancji. Badania Doktorantki wykazały ponadto, że wczesny stres działa nie tylko bezpośrednio na poziomy kortykosterydów w surowicy krwi, ale również pośrednio przez obniżenie stężenia białek wiążących GC w surowicy krwi zwierząt. Wczesny stres specyficznie zwiększa również ekspresję dehydrogenazy 11 β -hydroksysteroidowej 1 w przyśrodkowej korze czołowej (przedczołowej).

Przeprowadzone przez doktorantkę badania, po raz kolejny udowodniły niekorzystny wpływ wczesnego stresu na zmiany morfologiczne i biochemiczne dziejące się w ośrodkowym układzie nerwowym. Badanie te stanowią kolejną „cegiełkę” do zrozumienia tego co dzieje się w tym niezwykle ważnym dla życia dorosłego osobnika czasie, w którym dochodzi do spiętrzenia procesów rozwojowych i dojrzewania mózgowia, które ostatecznie decyduje o jakości życia osobnika dorosłego. Oczywiście na podstawie tych badań, wciąż jeszcze nie wiemy jakie konsekwencje ostatecznie może wywołać stres wczesny, jak zmieni on okres dojrzewania czy w końcu dojrzałego życia takiego osobnika, ale stanowią one kolejny przyczynek do tego, aby bardzo poważnie traktować okres rozwoju i kształtowania się naszego mózgu. Być może dokładne poznanie tych mechanizmów pozwoli nam w przyszłości tak modulować zachowanie określonych układów mózgowia, że uda nam się wyeliminować zaburzenia osobowości czy nawet zmniejszyć wpływ mózgowia na powstawanie wielu schorzeń określanych obecnie jako choroby cywilizacyjne, przynajmniej tych co do których nie mamy wątpliwości, że w znaczącej części biorą swój początek w nieprawidłowościach naszego mózgu.

Podsumowując należy stwierdzić, że przedłożona do oceny rozprawa doktorska magister Iwony Majcher-Maślanki, oparta na trzech znakomitych publikacjach oraz dodatkowo na przeprowadzonych badaniach behawioralnych przygotowana jest znakomicie a zamieszczone uzupełnienie omawiające osiągnięte przez Doktorantkę wyniki, zarówno te zawarte w publikacjach jak i badaniach uzupełniających przedstawione są klarownie, z olbrzymią

dbałością o ikonografię. Zastosowana metodyka jest nowoczesna, opiera się na badaniach klasycznych, molekularnych i biochemicznych jest innowacyjna i nie budzi zastrzeżeń. Wnioski końcowe ostrożne, ale jednocześnie oparte na rzetelnie przeprowadzonych badaniach nie budzą wątpliwości. Oczywiście zawsze można zastanawiać się w jakim stopniu możemy przenosić uzyskane wyniki na zwierzętach na zaburzenia występujące u ludzi, ale jest to odwieczny dylemat badaczy ośrodkowego układu nerwowego.

Biorąc pod uwagę powyżej przedstawioną opinię przedkładam Radzie Naukowej Instytutu Farmakologii im. Jerzego Maja, Polskiej Akademii Nauk wniosek o dopuszczenie mgr Iwony Majcher-Maślanki do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Oceniona rozprawa stanowi samodzielny dorobek naukowy mgr I. Majcher-Maślanki i wnosi szereg ciekawych i nowych faktów do piśmiennictwa światowego o czym świadczy już 29 krotne cytowanie tych publikacji w piśmiennictwie światowym, pomimo krótkiego okresu. Stąd też uważam, że przedstawiona rozprawa doktorska odpowiada w pełni warunkom określonym w art. 187 ustawy z dnia 20 lipca 2018 – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. Ustaw 2018 poz. 1668 i D.U. 2020 poz. 85 z późn. zm.) oraz w mojej opinii zasługuje na wyróżnienie.


Prof. dr hab. med. Janusz Moryś