

Warszawa, 7.01.2026

Recenzja rozprawy doktorskiej mgr. Michała Wilczkowskiego

pt. „Regulacja plastyczności synaptycznej przez kortykosteron:

badanie mechanizmów w kortykalnych i hipokampalnych hodowlach pierwotnych”

wykonanej w Instytucie Farmakologii im. Jerzego Maja Polskiej Akademii Nauk pod kierunkiem prof. dr hab. Ireny Nalepy - promotor i dr Agnieszki Zelek-Molik - promotor pomocniczy

Rozprawa doktorska mgr. Michała Wilczkowskiego pod tytułem „**Regulacja plastyczności synaptycznej przez kortykosteron: badanie mechanizmów w kortykalnych i hipokampalnych hodowlach pierwotnych**” wykonana została w Instytucie Farmakologii im. Jerzego Maja Polskiej Akademii Nauk, pod promotorską opieką prof. dr hab. Ireny Nalepy oraz dr Agnieszki Zelek-Molik. Przedstawione w rozprawie doktorskiej badania dotyczą wpływu długotrwałe podwyższonego poziomu kortykosteronu (CORT) na strukturę kolców dendrytycznych w pierwotnych neuronach korowych i hipokampalnych. Doktorant wykazał, że chroniczne działanie CORT indukuje zmiany kształtu kolców dendrytycznych, przy czym charakter tych zmian różni się między neuronami korowymi a hipokampalnymi. Ponadto przeanalizował rolę cytoplazmatycznej kinazy białkowej FAK w regulacji morfologii kolców dendrytycznych, zarówno w warunkach działania CORT, jak i niezależnie od niego. Wyniki uzyskane przez mgr. Wilczkowskiego mają istotne znaczenie poznawcze, gdyż wskazują mechanizmy, za pomocą których długotrwałe działanie kortykosteronu, będącego kluczowym hormonem stresu, indukuje zmiany strukturalne w kolcach dendrytycznych neuronów korowych i hipokampalnych. Zmiany te leżą u podstaw plastyczności synaptycznej oraz funkcjonowania sieci neuronalnych. Wykazanie ich odmiennego charakteru w korze i hipokampie dostarcza nowych informacji o mechanizmach działania stresu specyficznych dla poszczególnych regionów mózgu. Dodatkowo identyfikacja białka FAK jako czynnika zaangażowanego w te procesy oraz możliwość przeciwdziałania efektom chronicznego CORT poprzez modulację aktywności FAK wskazują na potencjalne nowe cele molekularne w badaniach nad zaburzeniami związanymi z przewlekłym stresem, takimi jak depresja.

Rozprawa doktorska została napisana w języku polskim i liczy 158 stron. Układ pracy jest standardowy dla prac doktorskich o charakterze doświadczalnym. Wyniki stanowiące część rozprawy zostały uzyskane w ramach realizacji grantu Narodowego Centrum Nauki, Preludium nr 2021/41/N/NZ4/01845, którego kierownikiem był mgr Michał Wilczkowski.

Cel pracy jest jasno sformułowany i jest nim określenie, które parametry morfologiczne kolców dendrytycznych ulegają zmianom pod wpływem chronicznego działania CORT w mysich neuronach korowych i hipokampalnych. Dodatkowym celem było zbadanie czy manipulacja aktywnością białka FAK może modulować te zmiany i przeciwdziałać negatywnym efektom długotrwanie podwyższonego poziomu CORT. Rozdział *Wstęp* liczy 21 stron, zawiera wszystkie kluczowe wiadomości potrzebne do zrozumienia rozprawy oraz stanowi wyczerpujące wprowadzenie do jej tematyki. Przedstawiono w nim charakterystykę budowy i funkcji kolców dendrytycznych, przegląd wybranych mechanizmów regulujących ich strukturę, a także omówiono rolę CORT oraz białka FAK w tych procesach. *Wstęp* niniejszej rozprawy doktorskiej może stanowić wartościowe źródło wiedzy dla osób rozpoczynających badania naukowe nad mechanizmami modulującymi kształt kolców dendrytycznych. Rozdział ten bez wątplenia dowodzi, że Doktorant prezentuje ogólną wiedzę teoretyczną osoby ubiegającej się o nadanie stopnia doktora w dyscyplinie nauki medyczne.

Najważniejszym elementem rozprawy jest rozdział *Wyniki*. Eksperymenty opisane w tej części rozprawy zostały zaplanowane w sposób precyzyjny i konsekwentny, w celu weryfikacji hipotez postawionych przez Doktoranta. Badania opisane w dysertacji stanowią bardzo dobry przykład podejścia typu hypothesis-driven research, w którym dobór metod i strategii eksperymentalnych jest ściśle podporządkowany jasno sformułowanym pytaniom badawczym. Uzyskane przez Doktoranta dane są starannie udokumentowane i w przeważającej mierze nie budzą zastrzeżeń ze strony recenzenta. Całokształt przedstawionych wyników oraz sposób ich analizy i interpretacji stanowią przekonujący dowód wysokich kompetencji Doktoranta oraz jego umiejętności samodzielnego prowadzenia badań naukowych. Pomimo wysokiej jakości przedstawionych wyników, chciałbym jednak zapytać, czy Doktorant rozważał możliwość przeprowadzenia analizy rozkładów wartości parametrów opisujących morfologię kolców dendrytycznych, obok przedstawionej analizy wartości średnich? Wydaje się, że takie podejście mogłoby potencjalnie dostarczyć dodatkowych informacji dotyczących zmienności badanych struktur oraz ujawnić subtelne efekty, które nie zawsze są widoczne na poziomie danych uśrednionych. Podobnie chciałbym zapytać, czy w badaniach dotyczących wpływu CORT na ogólną morfologię neuronów Doktorant brał pod uwagę zastosowanie analizy Sholla w celu oceny złożoności drzewka dendrytycznego, jako uzupełnienia

analizy całkowitej długości dendrytów? Tego rodzaju analiza, możliwa do przeprowadzenia przy wykorzystaniu tego samego materiału badawczego, mogłaby pozwolić na bardziej szczegółową ocenę organizacji przestrzennej i stopnia rozgałęzienia dendrytów, a tym samym dostarczyć dodatkowego kontekstu dla interpretacji uzyskanych wyników. Bardzo proszę Doktoranta o komentarz w tej sprawie.

Rozprawę doktorską kończy *Dyskusja* oraz zwięzłe i bardzo dobre podsumowanie uzyskanych wyników. W przedstawionej dyskusji na str. 106 Doktorant sugeruje, że brak istotnych statystycznie zmian w gęstości kolców dendrytycznych po zastosowaniu niższych stężeń CORT może wynikać z ograniczonej liczby replik biologicznych. W tym kontekście chciałbym zapytać, czy Doktorant rozważał lub przeprowadzał analizę typu bootstrap, która mogłaby pozwolić na oszacowanie wpływu liczby powtórzeń biologicznych na stabilność obserwowanych efektów oraz na prawdopodobieństwo osiągnięcia istotności statystycznej przy zwiększonej liczbie pomiarów? Tego rodzaju podejście mogłoby dostarczyć dodatkowych, ilościowych przesłanek wspierających zaproponowaną interpretację wyników. Uprzejmie proszę Doktoranta o odniesienie się do tej kwestii. Dalej na str. 108 interpretacji wyników Doktorant wskazuje, że brak obserwowanych zmian w średniej gęstości punktów PSD95 oraz intensywności ich fluorescencji, pomimo wyraźnych zmian morfologicznych kolców dendrytycznych indukowanych 72-godziną inkubacją z CORT, może wynikać z analizy sygnału PSD95 obejmującej zarówno kolce dendrytyczne, jak i dendryty. W tym kontekście chciałbym zapytać, czy Doktorant rozważał możliwość, że obserwowana rozbieżność może być częściowo tłumaczona redystrybucją PSD95 z kolców dendrytycznych do trzonów dendrytów? Taki „odpływ” PSD95 mógłby kompensować spadek sygnału związanego z ubytkiem lub destabilizacją kolców, a jednocześnie pozostać niewykryty przy analizie prowadzonej na poziomie całych neuronów. Bardzo proszę Doktoranta o komentarz w tej sprawie.

Podsumowując, rozprawę doktorską Pana mgr. Michała Wilczkowskiego oceniam wysoko. Praca została napisana na wysokim poziomie, a przedstawione w niej wyniki, w moje ocenie, stanowią oryginalne rozwiązanie istotnego problemu naukowego. Pan mgr Wilczkowski wykazał, że długotrwałe podniesiony poziom kortykosteronu indukuje regionalne zróżnicowanie morfologii kolców dendrytycznych w pierwotnych neuronach korowych i hipokampalnych, obejmujące m.in. modyfikacje ich długości oraz szerokości głowy. Ponadto udowodnił, że manipulacja aktywnością kinazy ognisk adhezji może naśladować lub częściowo znosić efekty działania CORT, przy czym rola FAK w regulacji morfologii kolców wykazuje wyraźne różnice między neuronami korowymi i hipokampalnymi. Jest to istotny wynik, który poszerza wiedzę na temat mechanizmów regulujących strukturalną plastyczność synaptyczną. Z perspektywy przyszłych badań może on również stanowić punkt wyjścia do identyfikacji nowych celów

molekularnych w badaniach nad zaburzeniami związanymi z przewlekłym stresem. Moje drobne uwagi wynikają wyłącznie z ciekawości i nie mają wpływu na moją bardzo wysoką ocenę rozprawy doktorskiej Pana mgr. Michała Wilczkowskiego. Rozprawa doktorska spełnia warunki określone w art. 187 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (tj. Dz.U. 2024, poz. 1571 z późn. zm.). Wnoszę więc do Wysokiej Rady Naukowej Instytutu Farmakologii im. Jerzego Maja Polskiej Akademii Nauk o dopuszczenie Pana mgr. Michała Wilczkowskiego do dalszych etapów postępowania w sprawie nadania stopnia doktora w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu, dyscyplinie nauki medyczne.

Jakub Włodarczyk

