



Dr hab. Kinga Sałat, prof. UJ  
Katedra Farmakodynamiki UJ CM  
ul. Medyczna 9, 30-688 Kraków

Kraków, 11. 04. 2018

**Recenzja**  
**rozprawy doktorskiej mgr. inż. Jana Detki pt.**  
**„WYBRANE SZLAKI METABOLICZNE W MÓZGU W ZWIERZĘCYM**  
**MODELU DEPRESJI”**

wykonanej w Zakładzie Neuroendokrynologii Doświadczalnej Instytutu Farmakologii Polskiej  
Akademii Nauk w Krakowie

**1. Podstawa formalna opracowania recenzji:**

Recenzja została opracowana na zamówienie Dyrektora Instytutu Farmakologii Polskiej Akademii Nauk w Krakowie, prof. dr. hab. Władysława Lasonia, na podstawie uchwały Rady Naukowej Instytutu Farmakologii Polskiej Akademii Nauk w Krakowie z dnia 28.06.2017 r.

**2. Tematyka rozprawy i uzasadnienie podjęcia tematu**

Zaburzenia depresyjne należą do grupy chorób afektywnych. Szacuje się, iż charakterystyczne dla depresji objawy osiowe - obniżenie nastroju i anhedonia, jak również współwystępujące objawy wtórne (np. zaburzenia snu, lęk, zmęczenie, obniżony napęd psychoruchowy, zaburzenia apetytu, czy ból psychogeny) dotyczą ok. 16% populacji światowej, stanowiąc istotny i wciąż narastający problem medyczny oraz społeczny.

Depresja jest chorobą o złożonej etiologii, uwarunkowaną czynnikami zarówno genetycznymi, jak i środowiskowymi. Z tego względu diagnoza depresji, zwłaszcza w kontekście możliwych psychiatrycznych schorzeń współistniejących oraz podobieństwa objawów depresyjnych do objawów pojawiających się w przebiegu innych zaburzeń psychicznych, jest niezwykle trudna. Co więcej, leczenie depresji jest procesem długotrwałym, a większość stosowanych obecnie leków przeciwdepresyjnych ma opóźniony początek działania klinicznego i jest skuteczna jedynie u części pacjentów. Ponadto niektóre z tych leków obarczone są bardzo poważnymi działaniami niepożądanymi i wykazują interakcje z innymi stosowanymi jednocześnie lekami, co znacząco ogranicza możliwości farmakoterapii u wielu pacjentów.

Patogeneza depresji nie została do chwili obecnej jednoznacznie zdefiniowana – prowadzone od wielu lat badania naukowe doprowadziły do sformułowania kilku teorii tłumaczących możliwe mechanizmy powstawania tego schorzenia. Do najważniejszych a zarazem najstarszych należą: teoria monoaminergiczna wiążąca powstawanie depresji z deficytem monoamin w mózgu oraz teorie zmian

adaptacyjnych gęstości mózgowych receptorów dla neuroprzekaźników i zaburzeń równowagi wewnątrzkomórkowych szlaków sygnałowych. Nowsze teorie tłumaczące patomechanizm powstawania depresji nie są zaprzeczeniem teorii monoaminergicznej, ale kładą silny nacisk na wzajemne oddziaływanie pomiędzy układem nerwowym, immunologicznym i hormonalnym. Badania ostatnich lat wskazują bowiem, iż to właśnie zaburzenia funkcji tych układów (m.in. przewlekły proces zapalny w ośrodkowym układzie nerwowym, zmiany ilościowe i morfologiczne neuronów oraz komórek glejowych, zaburzenia wydzielania hormonów i nieprawidłowości metaboliczne) mogą być przyczyną i/lub konsekwencją depresji, a stosowana terapia przeciwdepresyjna przywraca prawidłowe funkcje ww. układów. Wydaje się zatem, że zaburzenia depresyjne to wysoce heterogenna grupa schorzeń o zbliżonych objawach psychofizycznych, ale często bardzo zróżnicowanym fenotypie, co istotnie utrudnia diagnozę pacjentów i ich skuteczne leczenie.

Powiązanie chorób psychicznych, w tym depresji, z nieprawidłową czynnością wydzielniczą osi podwzgórze – przysadka – nadnercza (oś HPA) należy niewątpliwie do najważniejszych odkryć współczesnej neurobiologii, a wykazanie istotnej roli dysregulacji tej osi, a w konsekwencji nadmiernego, chronicznego wydzielania glikokortykosteroidów i hyperaktywacji układu adrenergicznego jako ważnych czynników etiologicznych depresji, pozwoliło powiązać przewlekły stres oraz zaburzenia nastroju ze zmienionym metabolizmem organizmu pacjentów z depresją.

Problematykę związku zaburzeń depresyjnych z zaburzeniami metabolicznymi podejmuje rozprawa doktorska mgr. inż. Jana Detki. Praca ta wykonana została pod kierownictwem naukowym prof. dr hab. Bogusławy Budziszewskiej. Przedstawione w pracy badania były realizowane w ramach projektu pt. „Depresja – Mechanizmy – Terapia” (program Innowacyjna Gospodarka, nr POIG.01.01.0212-004/09, zadanie 1.5 – „Mózgowy metabolizm glukozy w depresji”). Część badań została sfinansowana z funduszy działalności statutowej Zakładu Neuroendokrynologii Doświadczalnej Instytutu Farmakologii PAN w Krakowie.

### **3. Charakterystyka rozprawy**

Rozprawa napisana jest w języku polskim, składa się z 9 rozdziałów oraz spisu literatury (228 pozycji). Spis literatury został zaprezentowany w porządku alfabetycznym. W przeważającej części zawiera on najnowsze pozycje; za wyjątkiem dwóch, wszystkie pozycje są anglojęzyczne, z szeroko rozumianego zakresu neurobiologii stresu, depresji i zagadnień pokrewnych. Wykaz literatury zredagowany został jednolicie i bez większych błędów.

Całość pracy doktorskiej przedstawiona jest na 127 stronach. Rozprawa ma typowy dla prac doktorskich układ rozdziałów stanowiących logiczną całość; zawiera 22 ryciny, na których zaprezentowano uzyskane wyniki oraz 2 tabele.

Przed złożeniem rozprawy Doktorant opublikował częściowo wyniki swoich badań w dwóch artykułach indeksowanych w bazach JCR. Na podkreślenie zasługuje fakt, iż w obu tych pracach jest pierwszym autorem, co niewątpliwie świadczy o Jego wiodącej roli w przygotowaniu i opracowaniu wyników badań do tych publikacji.

Rozprawa doktorska, której autorem jest mgr inż. Jan Detka rozpoczyna się **rozdziałem pierwszym**, w którym w porządku alfabetycznym przedstawiony został wykaz najważniejszych skrótów używanych w dalszej jej części. Spis ten znacząco ułatwia analizę rozprawy.

**Rozdział drugi** stanowi wprowadzenie do podjętej w pracy tematyki. Doktorant przedstawił w nim przegląd literatury dotyczącej ogólnej charakterystyki zaburzeń depresyjnych, opisał teorie powstawania depresji. Szczególnie skoncentrował się na wyjaśnieniu roli dysfunkcji osi HPA w patogenezie depresji. Przedstawił mechanizmy działania glikokortykosteroidów na poziomie mózgowym, wyjaśnił na czym polega wpływ dysfunkcji osi HPA w depresji na rozwój zaburzeń metabolicznych oraz opisał najważniejsze zaburzenia metaboliczne w mózgu wywołane przewlekłym stresem i depresją. Rozdział drugi kończy się przedstawieniem stosowanych obecnie w farmakologii doświadczalnej zwierzęcych modeli depresji, ze szczególnym uwzględnieniem wykorzystanego do badań przedstawionych w niniejszej rozprawie doktorskiej modelu stresu prenatalnego.

W **rozdziale trzecim** Doktorant opisał szczegółowo cel podjęcia badań. Uzasadnił dobór modelu do realizacji celu badań i wyjaśnił, że dostępne dane literaturowe wskazują na możliwy związek zaburzeń gospodarki hormonalnej i związanych z tym zaburzeń metabolizmu glukozy z nieprawidłową funkcją ośrodkowego układu nerwowego. W tym miejscu Doktorant podkreślił, iż istnieje niewiele badań dotyczących wpływu stresu prenatalnego na regulację gospodarki węglowodanowej w mózgu. Zatem zgłębienie tego zagadnienia – określenie roli stresu prenatalnego w powstawaniu trwałych zmian w metabolizmie glukozy w wybranych strukturach mózgu (kora czołowa, hipokamp i podwzgórze) u zwierząt dorosłych, wybrał jako cel badań stanowiących podstawę recenzowanej rozprawy.

W mojej opinii cel ten został sformułowany w sposób przejrzysty, zaplanowane zadania badawcze służące realizacji celu badawczego zostały dobrane w sposób logiczny, a dalsza część rozprawy doktorskiej jest konsekwentnym nawiązaniem do postawionej hipotezy badawczej.

**Rozdział czwarty** zawiera dokładny opis metodyki i użytych do badań materiałów. W tej części pracy opisany został gatunek zwierząt wykorzystywanych do badań, ich pochodzenie, warunki bytowania w laboratorium. Została również przedstawiona wykorzystywana w doświadczeniu procedura stresu prenatalnego, jakiej poddano zwierzęta – ciężarne samice szczurów, których potomstwo wykorzystano w dalszych badaniach *in vivo*. Model stresu prenatalnego, jak wskazuje Doktorant, ma dobrze udokumentowaną w literaturze spójność zewnętrzną, spójność konstruktu i spójność predykcyjną, przez co może on być uznany za spełniający podstawowe kryteria model depresji. Co

więcej, dane literaturowe cytowane przez Doktoranta wskazują, iż stres prenatalny prowadzi do wystąpienia kluczowych zmian zarówno neurochemicznych, jak i behawioralnych u poddanych tej procedurze zwierząt (m.in. dysregulacja osi HPA, zaburzenia neurogenezy w niektórych strukturach mózgu, zaburzenia snu, funkcji kognitywnych), a podawanie leków przeciwdepresyjnych może odwracać te nieprawidłowości. Model ten był już wcześniej wykorzystywany w badaniach prowadzonych w Zakładzie Neuroendokrynologii Doświadczalnej IF PAN.

Ta część rozprawy doktorskiej zawiera również opis testu wymuszonego pływania, procedur stresu ostrego i obciążenia glukozą. Doktorant zawarł w niej informacje na temat sposobu uśmiercania zwierząt i pobierania tkanek do dalszych oznaczeń *ex vivo*. W formie tabeli przedstawił podział grup eksperymentalnych; dodatkowo opisał metody użyte do oznaczenia stężenia glukozy, glikogenu w wybranych strukturach mózgu (kora, hipokamp) i osoczu krwi, metody oznaczenia stężenia pirogronianu, L-mleczanu, dehydrogenazy glukozy-6-fosforanu, frakcji mitochondrialnej, metody pomiaru aktywności kompleksu IV oksydazy cytochromu c i sposób oznaczania stężenia białka w badanych próbkach. Rozdział kończy się opisem wykorzystanych do analizy testów statystycznych.

W **rozdziale piątym**, kluczowym dla całej rozprawy, Doktorant przedstawia uzyskane wyniki badań. Szczegółowo opisuje wpływ stresu prenatalnego oraz czynników dodatkowych – stresu ostrego oraz obciążenia glukozą, na mierzone parametry: czas bezruchu i wspinania w teście wymuszonego pływania, poziom glukozy i insuliny w osoczu krwi badanych zwierząt, poziom kortykosteronu, glukozy, glikogenu, transporterów glukozy (GLUT1, GLUT3 i GLUT4), enzymów glikolizy – heksokinazy, fosfofruktokinazy I oraz kinazy pirogronianowej, poziom metabolitów procesu glikolizy – pirogronianu, L-mleczanu, wybranych enzymów cyklu Krebsa (dehydrogenazy pirogronianowej, dehydrogenazy  $\alpha$ -ketoglutaranowej) oraz aktywność kompleksu IV oksydazy cytochromu c, dehydrogenazy glukozy-6-fosforanu w korze czołowej i hipokampie. Omawia szczegółowo wpływ stresu prenatalnego, stresu ostrego i obciążenia glukozą na poziom insuliny, całkowitą zawartość podjednostki  $\beta$  receptora insuliny, poziom jej ufosforylowanej frakcji, zawartość glukagono-podobnego peptydu-1 i jego receptora w korze czołowej, hipokampie i podwzgórzu.

**Rozdział szósty** stanowi wnikliwa dyskusja wyników uzyskanych badań. Rozpoczyna się ona krótkim opisem najważniejszych zmian w gospodarce węglowodanowej zaobserwowanych w tkankach zwierząt poddanych procedurze stresu prenatalnego i działaniu czynników dodatkowych – stresu ostrego oraz obciążenia glukozą. Doktorant już w tym momencie wyjaśnia, dlaczego do badania markerów metabolizmu glukozy wybrał korę czołową i hipokamp oraz, dodatkowo - dla wykonania niektórych oznaczeń, podwzgórze. Wskazuje również dlaczego w badaniach wykorzystał model stresu prenatalnego, podkreślając, że zmiany neurochemiczne i behawioralne u zwierząt poddanych tej procedurze mają charakter długotrwały i obserwowane są zarówno u zwierząt młodych, jak też

dorosłych. Ponadto sama procedura umożliwia nie tylko zidentyfikowanie zaburzeń w określonych procesach, w tym w procesach metabolicznych, ale i daje możliwość oszacowania, w jaki sposób procesy te mogą być regulowane działaniem dodatkowych bodźców stresowych. W dalszej części dyskusji Doktorant analizuje wyniki badania behawioralnego – testu wymuszonego pływania, wskazując, iż stres prenatalny istotnie zmienił mierzone w tym teście parametry (czas bezruchu, czas wspinania), a zaobserwowane zmiany u stresowanych zwierząt mogą świadczyć o występujących u nich zaburzeniach przekąźnictwa monoaminergicznego.

Rozdział szósty to również szczegółowa analiza i próba wytłumaczenia uzyskanych wyników badań biochemicznych. Doktorant podkreśla, iż otrzymane wyniki wskazują na to, że stres prenatalny podwyższa zawartość glukozy i glikogenu nie tylko we krwi, ale i w badanych strukturach mózgu szczura. Ten nieoczekiwany efekt Doktorant tłumaczy możliwym zahamowaniem metabolizmu glikogenu w astrocytach, co byłoby związane ze spadkiem aktywności neuronalnej, a w konsekwencji z osłabieniem długotrwałego wzmocnienia synaptycznego w korze czołowej. Możliwe inne wytłumaczenie dla zaobserwowanych zmian to swoisty mechanizm obronny, mający na celu zwiększenie rezerw energetycznych tkanek w odpowiedzi na stres.

W dalszej części dyskusji Doktorant skupia się na omówieniu innych zmian w mierzonych wskaźnikach biochemicznych związanych z metabolizmem glukozy w korze czołowej, hipokampie i podwzgórz. Wyniki przeprowadzonych eksperymentów odnosi i porównuje do danych uzyskanych przez innych autorów.

Dyskusja prowadzona jest w sposób płynny i logiczny, a wnioski na temat uzyskanych rezultatów są poprawne i poparte danymi literaturowymi z ostatnich lat.

Tę część rozprawy kończy krótkie podsumowanie, w którym Autor wskazuje, iż uzyskane przez Niego wyniki badań potwierdzają, że stres prenatalny może nie tylko wywierać wpływ na procesy regulujące metabolizm glukozy w mózgu u szczurów, lecz również działać jako czynnik zmieniający wrażliwość tkanki mózgowej na czynniki stresowe działające u zwierząt dorosłych. W przeprowadzonych badaniach mgr inż. Jan Detka wykazał bowiem, że stres prenatalny potęguje działanie bodźców stresowych, na które narażone są dorosłe zwierzęta – w korze czołowej zwierząt poddawanych stresowi prenatalnemu obserwowano przede wszystkim nasilony efekt stresu ostrego, natomiast w obrębie hipokampa więcej zmian wywoływało podanie zwierzętom glukozy, niż poddanie ich działaniu stresu ostrego. Ten ostatni jednak, zastosowany łącznie z glukozą, nasilał zmiany nią indukowane.

Kończąc dyskusję Doktorant podkreśla, iż na tym etapie badań ciężko jednoznacznie stwierdzić, czy zaobserwowane w strukturach mózgowych zmiany metabolizmu glukozy wywołane stresem prenatalnym są korzystne dla prawidłowego funkcjonowania układu nerwowego, czy też nie. Słusznie

zauważa, że badane procesy metaboliczne mają miejsce w różnych typach komórek ośrodkowego układu nerwowego (astrocyty, neurony). Zatem zmiany indukowane stresem mogą wpływać na aktywność tych komórek i pełnić rolę ochronną i adaptacyjną, polegającą na gromadzeniu substratów energetycznych zwiększających wydajność metaboliczną komórek w odpowiedzi na nagłe bodźce stresowe lub przeciwnie – szkodliwą, związaną m.in. z osłabieniem procesu neurogenezy i nasileniem zmian neurodegeneracyjnych. Doktorant zaznacza, iż zaprezentowane w rozprawie badania to pierwsze takie doświadczenia, a ich celem było prześledzenie wybranych ścieżek metabolizmu węglowodanów w ważnych z punktu widzenia patogenezy depresji strukturach mózgu. Wskazuje też na istotne ograniczenia odnośnie interpretacji uzyskanych wyników - na przykład to, iż badania wykonano z wykorzystaniem tylko jednego modelu zwierzęcego.

**W rozdziale siódmym – ostatnim,** Doktorant formułuje wnioski końcowe i przedstawia najważniejsze osiągnięcia uzyskane w ramach prowadzonych badań.

#### **4. Najważniejsze osiągnięcia rozprawy**

Uzyskane przez Doktoranta wyniki, poparte rzetelnie danymi literaturowymi, sugerują, że wynikające z ekspozycji na stres prenatalny zmiany metabolizmu glukozy w mózgu mogą być istotnym wczesnym sygnałem wskazującym na upośledzenie funkcji komórek układu nerwowego, przyczyniając się do rozwoju zespołu objawów charakterystycznych dla depresji. Wnikliwa analiza otrzymanych wyników pozwala określić najważniejsze dokonania naukowe i poznawcze, które w ujęciu ogólnym są następujące:

1. Stres prenatalny zwiększa stężenie glukozy w hipokampie i nasila akumulację glikogenu w korze czołowej szczurów, zarówno w warunkach podstawowych, jak i w odpowiedzi na działanie dodatkowych czynników stresowych aplikowanych zwierzętom dorosłym.
2. U zwierząt stresowanych prenatalnie zarówno wychwyt glukozy, jak i proces glikolizy ulegają nasileniu pod wpływem dodatkowych czynników stresowych – świadczy o tym wzrost ekspresji transporterów glukozy, fosfofruktokinazy I oraz zwiększone stężenie L-mleczanu. Nasilenie wychwytu glukozy i procesu glikolizy w hipokampie może być mechanizmem kompensującym niedobory energetyczne związane z osłabieniem procesu fosforylacji oksydacyjnej.
3. Zwiększona aktywność szlaku pentozofosforanowego w hipokampie zwierząt stresowanych prenatalnie stanowić może mechanizm ochronny, zabezpieczający tę część mózgu przed uszkodzeniami.
4. Obniżenie ekspresji receptora GLP-1 w hipokampie u zwierząt stresowanych prenatalnie może być jedną z przyczyn obserwowanych zmian metabolicznych, a spadek indukowanego

podaniem glukozy poziomu insuliny w podwzgórzu może mieć związek z obserwowaną na obwodzie hiperglikemią.

Podsumowując, w przeprowadzonych w ramach pracy doktorskiej eksperymentach Doktorant wykazał, iż stres w okresie prenatalnym w sposób trwały zmienia niektóre procesy metabolizmu węglowodanów w mózgu u szczurów, stanowiąc najprawdopodobniej czynnik warunkujący lub też zmieniający wrażliwość tkanki mózgowej na bodźce stresowe działające w okresie późniejszym, tj. u zwierząt dorosłych.

Moim zdaniem, przedstawione w rozprawie osiągnięcia świadczą o wysokich kompetencjach naukowych Doktoranta, zatem można rekomendować Jego osobę do nadania stopnia doktora w dziedzinie nauk medycznych w dyscyplinie biologii medycznej.

## **5. Uwagi do rozprawy**

**Uwagi o charakterze ogólnym, które są zarówno pytaniami do Doktoranta, komentarzami, jak również uwagami, które wymagają wyjaśnienia.**

### 1. Wstęp:

- Na str. 8 Doktorant przytacza amerykańską klasyfikację DSM-IV stosowaną do diagnozowania zaburzeń psychicznych – warto zauważyć, iż od maja 2013 r. dostępna jest już kolejna edycja tej klasyfikacji, to jest DSM-V.
- Podrozdział 2.8 (str. 23): Zwierzęce modele schorzeń psychicznych są przydatne w badaniu biologicznego podłoża chorób, ale również, o czym nie wspomina Doktorant, w poszukiwaniu nowych możliwości terapeutycznych tych schorzeń.
- Podrozdział 2.8: Na str. 23-24 Doktorant opisuje model chronicznego łagodnego stresu, model chronicznego nieprzewidywalnego łagodnego stresu i stresu prenatalnego – przedstawia te modele jako modele z wykorzystaniem szczurów. Dostępne dane literaturowe jasno wskazują, iż w modelach tych z powodzeniem stosowane są również myszy.

### 2. Materiały i metodyka:

- Analiza statystyczna wyników: w tej części pracy (str. 38) widnieje stwierdzenie, że uzyskane wyniki analizowano przy użyciu trójczynnikowej analizy wariancji i testu *post hoc* Duncana, podczas gdy w rozdziale 5.1 (str. 39) widnieje informacja, iż wyniki testu wymuszonego pływania analizowano używając jednoczynnikowej analizy wariancji.
- Wyjaśnienia wymaga droga podania roztworu glukozy zwierzętom – opisując drogę podania glukozy za pomocą sondy Doktorant miał zapewne na myśli podanie dożyłkowe, a nie jak określa w kolejnych rozdziałach pracy – podanie doustne.

### 3. Wyniki – w tej części pracy należałoby doprecyzować opis niektórych uzyskanych rezultatów:

- str. 48: jak pokazano na ryc. 6A (str. 49) – zawartość transportera GLUT1 w korze czołowej była istotnie wyższa, w porównaniu z odpowiednimi grupami kontrolnymi, nie tylko w grupie zwierząt stresowanych prenatalnie poddanych dodatkowo stresowi ostremu, ale i w grupie prenatalnie stresowanej, poddanej stresowi ostremu i jednocześnie obciążonej glukozą. Z kolei stężenie GLUT4 w tej strukturze mózgu (ryc. 8A, str. 51) było istotnie podwyższone u zwierząt prenatalnie stresowanych poddanych dodatkowo stresowi ostremu i u prenatalnie stresowanych szczurów, którym podano glukozę, w porównaniu nie tylko z odpowiadającymi im grupami kontrolnymi, ale i w porównaniu z kontrolą otrzymującą dożołądkowo wodę, a nie poddaną ani stresowi prenatalnemu, ani ostremu.

- str. 56: jak pokazano na ryc. 13B (str. 58), w hipokampie wzrost zawartości L-mleczanu, w porównaniu do jego zawartości u niestresowanej kontroli otrzymującej wodę, zaobserwowano w grupach zwierząt kontrolnych (niestresowanych prenatalnie) obciążonych glukozą i zwierząt kontrolnych, niestresowanych prenatalnie, a poddanych działaniu stresu ostrego i otrzymujących jednocześnie glukozę oraz zwierząt stresowanych prenatalnie, poddanych dodatkowo stresowi ostremu i otrzymujących równocześnie glukozę.

- str. 62: wyniki zaprezentowane na ryc. 16A (str. 63) wskazują, iż obniżenie aktywności kompleksu IV oksydazy cytochromu c w korze czołowej było obserwowane nie tylko w grupie kontrolnej niestresowanej prenatalnie, otrzymującej glukozę, w porównaniu z kontrolą niestresowaną prenatalnie, która otrzymywała wodę i nie była poddana stresowi ostremu, ale też w grupie kontrolnej niestresowanej prenatalnie, otrzymującej glukozę i poddanej stresowi ostremu.

- str. 64: wyniki zaprezentowane na ryc. 17B (str. 65) wskazują, iż w hipokampie zwierząt stresowanych prenatalnie zaobserwowano zwiększoną aktywność dehydrogenazy glukozo-6-fosforanu u zwierząt otrzymujących glukozę oraz zwierząt poddanych stresowi ostremu i jednocześnie otrzymujących glukozę, w porównaniu do kontroli niestresowanej prenatalnie, która nie była poddana stresowi ostremu, otrzymującej wodę. Istotne statystycznie zmiany zaobserwowano też w grupie zwierząt stresowanych prenatalnie poddanych stresowi ostremu i jednocześnie otrzymujących glukozę, w porównaniu do odpowiadającej jej kontroli niestresowanej prenatalnie.

- str. 70: jak pokazano na ryc. 20C (str. 71) zmiany zawartości podjednostki  $\beta$  receptora insuliny w podwzgórzu u zwierząt prenatalnie stresowanych, w porównaniu z kontrolą, która nie była poddana ani stresowi prenatalnemu, ani ostremu, otrzymującą wodę, miały miejsce również u zwierząt poddanych stresowi ostremu i jednocześnie obciążonych glukozą.

#### 4. Wnioski końcowe:



- wniosek nr 6: obniżenie ekspresji receptora GLP-1 w hipokampie zwierząt prenatalnie stresowanych można uznać za jedną z przyczyn obserwowanych zmian metabolicznych, ale ciężko na tym etapie badań przesądzać o wpływie na funkcje kognitywne, ponieważ taka aktywność nie była badana w ramach pracy doktorskiej. Może to być natomiast ważna sugestia odnośnie kierunku przyszłych badań.

### **Uwagi redakcyjne**

**Pragnę zaznaczyć, że poniższe uwagi redakcyjne nie mają istotnego wpływu na ocenę merytoryczną pracy i nie komplikują jej odbioru.**

1. Numeracja niektórych rycin opisana w tekście jest niezgodna z numeracją wykresów: ryc. 4 (Zawartość kortykosteronu w korze czołowej i hipokampie, str. 44) jest w tekście opisana jako ryc. 3 i taka numeracja jest właściwa. Podobnie rycina opisana w tekście jako ryc. 15C, 15D to w rzeczywistości ryc. 15A, 15B.
2. Praca napisana jest bardzo poprawnym językiem, jedynie w kilku miejscach pojawiają się pojedyncze błędy literowe (np. str. 4, 5, 14, 21, 63).
3. Prezentując wyniki zawarte w rozprawie doktorskiej Doktorant wielokrotnie używa sformułowań takich jak: „nasze badania”, „badania wykonane przez nas”, „nasze doświadczenia”, itp. Mając świadomość, iż prowadzone obecnie badania farmakologiczne są badaniami interdyscyplinarnymi, w których prowadzenie zaangażowane są całe zespoły badawcze i niemożliwym byłoby wykonanie ich przez jedną osobę, recenzent zauważa, iż w rozprawie doktorskiej, dla podkreślenia istotnego wkładu pracy Doktoranta, bardziej właściwe byłoby używanie form takich jak na przykład: „w badaniach wykazano”, „wyniki przeprowadzonych badań wskazują na...”, „wyniki przeprowadzonych doświadczeń”, itp.

### **6. Ogólna ocena rozprawy**

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska, której autorem jest mgr inż. Jan Detka skupia się na bardzo interesującym zagadaniu naukowym jakim jest związek zaburzeń metabolicznych w mózgu z chorobami psychicznymi. Badania są ciekawe i ważne nie tylko z naukowego, ale i potencjalnie użytecznego punktu widzenia, ponieważ wskazują na potencjalne zastosowanie uzyskanych wyników do dalszych badań przyczyn powstawania zaburzeń depresyjnych. Mogą też być pomocne w wytyczaniu kierunków poszukiwania nowych leków wpływających na funkcje ośrodkowego układu nerwowego.

Cele założone na wstępie pracy były konsekwentnie realizowane i w mojej ocenie zostały osiągnięte. Doświadczenie Doktoranta w zakresie wykorzystania różnych metod badawczych, szczególnie oznaczeń biochemicznych, wskazują jednoznacznie na Jego dogłębną wiedzę dotyczącą tematyki opisanej w pracy. Na podkreślenie zasługuje fakt umiejętnego zaplanowania zestawu doświadczeń,

które pozwoliły zweryfikować postawione hipotezy badawcze. Rozprawa wnosi istotny wkład naukowy w problematykę patogenezy depresji, a Doktorant wykazał się nie tylko praktyczną umiejętnością prowadzenia badań naukowych, ale i zdolnością wnikliwej dyskusji dotyczącej różnych aspektów zaburzeń metabolizmu glukozy w mózgu.

**Podsumowując, uważam, że przedłożona do recenzji rozprawa doktorska, której autorem jest mgr inż. Jan Detka spełnia wymagania stawiane rozprawom doktorskim przez Ustawę 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.). Dlatego przedkładam Radzie Naukowej Instytutu Farmakologii PAN w Krakowie wniosek o dopuszczenie Pana mgr. inż. Jana Detki do dalszych etapów przewodu doktorskiego.**

**Dodatkowo, z uwagi na wysoki poziom rozprawy doktorskiej, rangę rozwiązywanego problemu, zakres i jakość badań w niej przedstawionych, walory poznawcze i potencjalnie aplikacyjne, jak również biorąc pod uwagę to, iż część z wyników została już opublikowana w recenzowanych czasopismach naukowych, zgłaszam wniosek do Wysokiej Rady Naukowej Instytutu Farmakologii PAN o jej wyróżnienie.**

*Kinga Satał*