

Prof. dr hab. Jan Konopacki
Katedra Neurobiologii
Uniwersytetu Łódzkiego
90-236 Łódź
ul. Pomorska 141/143

Łódź, 07.08. 2020 r.

Recenzja

rozprawy doktorskiej mgr Jagody Jęczmień-Łazur pt.:

Electrophysiological characterization of light-sensitive neurons within the lateral geniculate nucleus of the rat thalamus

Ciało kolankowate boczne (LGN) stanowi istotny element systemu wzrokowego. Zarówno część grzbietowa jak i brzuszna LGN jest zależna od pobudzenia różnych typów fotoreceptorów znajdujących się w siatkówce oka: pręcików, czopków S, czopków M oraz komórek melanopsynowych. Informacja z tych fotoreceptorów zostaje przetworzona przez grzbietową część ciała kolankowatego bocznego (dLGN). Struktura ta stanowi pierwszą stację przekaźnikową pomiędzy siatkówką a pierwszorzędowną korą wzrokową ssaków i jest w dużym stopniu zaangażowana w klasyczne funkcje wzrokowe związane z fizjologią widzenia.

Aktywność neuronalna samego dLGN związana jest z ogólnym stanem wzbudzenia ośrodkowego układu nerwowego obecnym podczas snu i czuwania. Oba stany skorelowane są z dwoma odmiennymi wzorcami aktywności neuronalnej: aktywnością erupcyjną oraz toniczną.

Wzajemne relacje pomiędzy poszczególnymi elementami neuronalnymi systemu wzrokowego, rola bodźców świetlnych i nieświetlnych w aktywacji struktur wspomnianego systemu, wzorce aktywności komórkowej występujące w LGN oraz profil farmakologiczny substratu neuronalnego zegara biologicznego, to jedne z podstawowych problemów badanych obecnie w wielu laboratoriach na świecie. Przedstawiona mi do recenzji rozprawa doktorska pani mgr Jagody Jęczmień-Łazur

dotyczy właśnie tych zagadnień. Pochodzi ona z zespołu naukowego prof. dr hab. Mariana Lewandowskiego, mającego mocną i utrwaloną pozycję w literaturze światowej dotyczącej chronobiologii.

Celem niniejszej pracy było dokonanie elektrofizjologicznej charakterystyki światłoczułych neuronów LGN, ze szczególnym uwzględnieniem jego grzbietowej części. Szczegółowe cele dotyczyły:

- 1) sprawdzenia, czy spontaniczna oraz wywoływana światłem aktywność neuronów dLGN jest zależna od fazy ogólnego stanu wzbudzenia mózgu obserwowanego w zapisie ECoG podczas znieczulenia uretanowego,
- 2) scharakteryzowania aktywności neuronalnej dLGN w odpowiedzi na bodźce świetlne o różnej charakterystyce spektralnej, przy użyciu różnych wartości stymulacyjnych,
- 3) zbadania infralowej aktywności oscylacyjnej IGL oraz zdolności neuronów IGL/vLGN do kodowania intensywności światła białego.

Sam wybór problematyki badawczej dotyczącej elektrofizjologicznej charakterystyki światłoczułych neuronów LGN uważam za bardzo trafny i nadzwyczaj istotny dla zrozumienia skomplikowanych mechanizmów funkcjonowania ośrodkowych struktur zegara biologicznego. Przed przystąpieniem do badań doktorantka dokonała wnikliwej analizy literatury dotyczącej systemu wzrokowego gryzoni. Zagadnieniu temu poświęciła wiele uwagi w zgrabnie i bardzo interesująco napisanym wstępie. Mgr Jagoda Jęczmień-Łazur wybrała sobie za przedmiot swojej rozprawy doktorskiej problem trudny, bowiem kompleksowe zbadanie wzorców aktywności komórkowej LGN wymagało doskonałego przygotowania doświadczalnego. Jestem pełen uznania dla autorki - w krótkim okresie studiów doktoranckich opanowała, stosując model *in vivo* anestetyzowanego szczura, wyjątkowo trudne techniki eksperymentalne, w tym m.in. technikę rejestracji single- i multi unit z zastosowaniem sond jedno- i wielokanałowych.

Część metodyczna bardzo rzeczowo opisana została na 12 str. Słusznie, że do badań wybrano model szczura pigmentowego szczepu Long Evans. Szczep ten charakteryzuje się bowiem bardzo dobrym wzrokiem spowodowanym min. nadzwyczaj wysoką liczbą aksonów w nerwie wzrokowym. Protokoły eksperymentalne zostały dokładnie opisane i przedstawione w postaci diagramów co bardzo ułatwiło zrozumienie procedury doświadczalnej. Dużo miejsca poświęca autorka procedurze

analizy danych. Rejestrowane neurony klasyfikowano z użyciem dość skomplikowanych technik statystycznych w tym techniki wzornikowania (template matching method) oraz analizę głównych składowych (principal component analysis, PCA).

Na str. 42 opisano procedury związane z rejestracją pojedynczych neuronów. Do rejestracji przystępowano po okresie stabilizacji aktywności neuronalnej. **Ciekawy jestem jak długo trwała przeciętnie stabilizacja neuronu, który wcześniej został wyselekcjonowany do rejestracji? Jaki % neuronów wyselekcjonowanych udało się potem zarejestrować.**

Na ponad 30 str. przedstawiono uzyskane wyniki. Rozdział ten jest bogato ilustrowany dużą liczbą rycin, tabel i wykresów. Na ryc. R2 pokazano korelacje histogramów aktywności dwóch komórek względem oraz ECoG w sytuacji ekspozycji na światło. Tylko jedna z nich była wrażliwa na światło co manifestowało się zwiększeniem częstotliwości wyładowań.

Projektując ryciny do rozprawy doktorskiej autorka przyjęła konwencję artykułu naukowego. Większość rycin zamieszczonych w pracy ma charakter zintegrowanych ilustracji przygotowanych do publikacji w czasopismach naukowych, w których z oczywistych względów jest ograniczona ilość miejsca i liczba rycin. **Uważam, że wiele przedstawionych rycin byłoby czytelniejsza gdyby dane na nich przedstawione były rozbite. Moja uwaga dotyczy zwłaszcza rycin: R2 i R3, R6, R12, R18. Każda z nich składa się z kilkunastu rycin jednostkowych. Są moim zdaniem przeładowane.**

Rycina. R5 pokazuje w bardzo spektakularny sposób reakcje neuronów na światło. Ciekawie zachowują się neurony nr 1 i 3. Po zaprzestaniu stymulacji świetlnej wydaje się, że neurony te naśladują swoją aktywnością wzór stymulacji. **Czy zjawisko to ma charakter przypadkowy? Czy nie jest to forma swoistej pamięci wzorca naświetlania przez wspomniane neurony? Prosiłbym doktorantkę o komentarz w tej sprawie.**

Analizując ogólnie uzyskane przez doktorantkę wyniki należy stwierdzić, że uzupełniają one dotychczasową wiedzę z zakresu fizjologii LGN mózgu szczura. Przedstawiono w rozprawie szczegółową analizę spontanicznej i wywoływanej światłem aktywności neuronalnej tej struktury. Wykazano w jaki sposób cykliczne zmiany ogólnego stanu wzbudzenia ośrodkowego układu nerwowego mogą zmieniać kodowanie intensywności oświetlenia występującego w otoczeniu zwierzęcia. Autorka

w sposób przekonujący wykazała także występowanie dwóch rodzajów neuronów, odpowiadających przeciwnie na światło żółte i UV. Dodatkowo udowodniła, że komórki dLGN odpowiadające na światło w sposób toniczny są zaangażowane w kodowanie zmian intensywności światła białego w fazie aktywacji korowej. W części dyskusyjnej doktorantka sugeruje, że aktywność tych neuronów związana jest prawdopodobnie ze wspólnym unerwieniem dochodzącym do dLGN z czopków S i innych fotoreceptorów. W przypadku listka ciała kolankowatego (IGL) mgr Jagoda Jęczmień-Łazur pokazała po raz pierwszy, że w przeciwieństwie do szczurów albinotycznych, u zwierząt pigmentowanych wzorec aktywności neuronalnej, określanej mianem infralowkich oscylacji (< 0.01 Hz), występuje zarówno w warunkach pełnego oświetlenia, jak i w ciemności.

Do innych bardzo ciekawych wyników zaliczyłbym również ten dotyczący charakterystyki neuronalnej LGN. Mgr Jagoda Jęczmień-Łazur wykazała, że niewielka grupa komórek dLGN specjalizuje się w detekcji zmian intensywności światła ultrafioletowego, które występuje naturalnie w środowisku przed świtem i po zmierzchu. Co więcej, doktorantka wykazała, że zmiana spektrum światła poprzez użycie filtra górnoprzepustowego 525 nm wpływa na zdolność neuronów dLGN do kodowania intensywności światła białego. Ta ostatnia obserwacja może mieć istotne znaczenie kliniczne.

Na ponad 20 str. rozdziału „Dyskusja” autorka bardzo ciekawie i konsekwentnie omawia wszystkie uzyskane wyniki. Muszę podkreślić, że tekst ten jest napisany wyjątkowo dojrzałe i świadczy o znakomitym teoretycznym przygotowaniu mgr Jagody Jęczmień-Łazur do pracy naukowej. Zastosowanie szeregu podrozdziałów, systematyzuje uzyskane wyniki. Dyskusja kończy się sześcioma starannie przemyślanymi wnioskami.

Podsumowanie

Przedstawiona mi do recenzji rozprawa doktorska pani mgr Jagody Jęczmień-Łazur wskazuje, że doktorantka jest bardzo dobrze przygotowana pod względem teoretycznym jak również znajomości wielu trudnych technik fizjologicznych do przyszłej pracy naukowej. Recenzowana rozprawa doktorska stanowi przemyślaną koncepcyjnie, poprawnie wykonaną i opisaną całość, co składa się na wartościową

pracę naukową. Cytowane przez autorkę bardzo bogate liczebnie piśmiennictwo (ponad 400 prac) to artykuły starannie wyselekcjonowane, głównie z ostatnich 20 lat.

Uważam, że recenzowana praca odpowiada wszystkim wymogom stawianym rozprawom doktorskim określonym w artykule 13 Ustawy z dnia 14. 03. 2003 r. o stopniach i tytułach naukowych. Na tej podstawie przedkładam Wysokiej Radzie Wydziału Biologii i Nauk o Ziemi Uniwersytetu Jagiellońskiego wniosek o dopuszczenie mgr Jagody Jęczmień-Łazur do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Fakt, że wyniki przedstawione w rozprawie zostały częściowo wcześniej opublikowane w bardzo dobrych czasopismach z listy JCR upoważnia mnie do wystąpienia dodatkowo z wnioskiem o wyróżnienie recenzowanej rozprawy stosowną nagrodą.

Prof. dr hab. Jan Konopacki

