

Warszawa dn. 10.06.2020

## RECENZJA

Pracy doktorskiej mgr Bartosza Jura pt. **”Dynamika oddziaływań między korą mózgową a hipokampem w trakcie konsolidacji pamięci przestrzennej w modelu choroby Alzheimera u gryzoni”**, wykonanej po kierunku Prof. dr hab. Tiazy Bem.

Przedstawiona do recenzji praca obejmuje 104 stron tekstu poprzedzonego szczegółowym spisem treści oraz wykazem skrótów. Tekst ma układ typowy. W 10 stronicowym wprowadzeniu, znanym pod pojęciem wstępu, Doktorant przedstawia podstawowe pojęcia oraz teorie pojęcia konsolidacji zależnej od hipokampa, opisuje podstawową wiedzę dotyczącą zaburzeń pamięci w chorobie Alzheimera. W kolejnych 5 stronach wskazuje metodykę badawczą dotyczącą modeli zwierzęcych użytych w doświadczeniach tj: model myszy APP/PS1, procedurę implantacji elektrod pomiarowych, procedury behawioralne oraz pomiary czynności elektrycznej mózgu w badanych strukturach. Następnie przez kolejne 40 stron przedstawia bardzo szczegółowo wyniki wraz z metodyką badawczą. Typowy układ został zaburzony w tym rozdziale, gdzie czytelnik ma wrażenie, że czyta zarówno część metodyczną, wyniki jak również dyskusję wyników. Właściwa dyskusja zaś zajmuje jedynie 7 stron wraz z podsumowaniem. Praca zawiera 34 szczegółowe i wyczerpujące ryciny wraz z dobrze sformułowanymi opisami. Sekcja literatura zawiera 82 pozycje co wydaje się niewygórowaną ilością. Doktorant nie zawarł w dyskusji żadnej najnowszej pracy m.in. zespołu Menno Witter’a, który jest jednym z liderów badań anatomicznych kora-hipokamp. Po sekcji literatura znajduje się dodatek, który zawiera opis kolejnego eksperymentu mającego ocenić efekty behawioralne podawania bexarotene, potencjalnego leku łagodzącego objawy choroby Alzheimera (mechanizm działania związany z usuwaniem złogów amyloidu  $\beta$ ). Część ta jest dodatkiem. Ze względu na charakter obliczeniowy pracy koncentrujący się głównie na zagadnieniach związanych z badaniami elektrofizjologicznymi,



nie widzę konieczności umieszczania tej części w pracy. W szczególności, że procedura nie jest identyczna z eksperymentem podstawowym, co rodzi pytania czemu w eksperymencie podstawowym nie wykonano badań w dniach 7,8,9.

Wyniki opracowane są bardzo przejrzyste oraz zebrane i przedstawione w 34 rycinach. Nie ulega wątpliwości, że sekcja wynikowa została starannie przygotowana i wskazuje na wykonanie wnikliwych analiz. Muszę jednak zaznaczyć, że Doktorant w przyszłości powinien zwrócić uwagę na częstsze stawianie kropek. W pracy znajdują się zdania wielokrotnie złożone zajmujące do 9 linii np. na stronie 35 (linia 15-23), 43 (linia 20-29), 47 (linia 16-22). W tekście znajdują się zwroty, które nie są stosowane w nomenklaturze badawczej np. „ostrzejsza” pamięć.

Na stronie 35 czytamy: *„na podstawie 4.2.2 stwierdzić można, iż rozkłady różnią się w obu grupach, przy czym spowodowane jest to przede wszystkim wyraźną u zwierząt APP/PS1 tendencją do natychmiastowych powrotów do dopiero co odwiedzonych ramion”*. Doktorant tłumaczy ten wynik m.in. prawdopodobnym zachowaniem kompulsywnym. Zwróciłbym w dyskusji uwagę na opisany w literaturze poziom lęku tych zwierząt. Ten aspekt mógłby tłumaczyć zaobserwowane zachowania. Czy w literaturze istnieją doniesienia o poziomie lęku, zaburzeniach alternacji, czy występowaniu hiperfagii u myszy APP/PS1? Jak czytamy w pracach: Bonardi i wsp., 2011; Kilgore i wsp., 2010; Janus i wsp., 2015 istnieje bateria wykonanych testów behawioralnych różnicujących WT od APP/PS1, o czym Doktorant nie wspomina we wprowadzeniu. Po lekturze tych prac nie jestem przekonany, czy model behawioralny użyty do badania był modelem odpowiednim. Bardzo proszę Doktoranta o komentarz dotyczący tego aspektu podczas obrony Pracy Doktorskiej.

Imponująca jest liczba struktur jakie Doktorant wybrał do implantacji elektrod u pojedynczej myszy. Taki zabieg pozwolił na szeroko zakrojoną analizę statystyczną. Doktorant swobodnie porusza się w metodach obliczeniowych i odczuwalna jest jego neuroinformatyczne pasja. Mgr Bartosz Jura zastosował szereg zaawansowanych metod obliczeniowych m.in. metoda transformacji falkowej z użyciem falek Morleta, koherencja pomiędzy sygnałami LFP

rejestrowanymi w polach korowych i hipokampie, komodulacje amplitudową pomiędzy sygnałami w hipokampie i korze, czy kierunkową funkcję przejścia.

Doktorant wykazał szereg zależności między-strukturalnych m.in. stwierdzono np., że główny szlak oddziaływań w zakresie częstotliwości dla *ripple* prowadzi w trakcie SWR z kory RSC oraz PCC do pola CA1 hipokampie u myszy kontrolnych. Natomiast w grupie APP/PS1 oddziaływanie w paśmie *ripple* przejawia się najsilniej od kory do pola CA1 hipokampa, jednak z innych kanałów korowych: PFC oraz ACC. Doktorant na stronie 80 stwierdza, że oddziaływanie na szlaku PCC do pola CA1 hipokampa u myszy APP/PS1 jest dość silne podobnie jak u myszy WT, lecz wykazuje znaczny rozrzut w tej grupie, co wskazuje na dużą wartość błędu standardowego. Moim zdaniem w tym przypadku uwidacznia się aspekt, którego Doktorant nie podjął w rozprawie a mianowicie występowania różnic indywidualnych w grupie zwierząt. Od dawna wiadomo, że takie różnice indywidualne istnieją. Na stronie 50 czytamy, że: widma mocy odpowiadające wszystkim epizodom SWR znalezionym w ramach danej rejestracji uśredniono, uzyskując ostatecznie pojedynczą wartość średnią dla danego zwierzęcia. Na rysunku 4.9.1 ukazano średnie wyniki dla obu grup. Przy takiej prezentacji wyników występujące różnice indywidualne w grupie są nie do uchwycenia. Czy w analizowanych danych zwierzęta różnicowały się w grupie? Doktorant sam wskazuje możliwość występowania różnic indywidualnych (str. 55, linia: 20-24; str. 62, linia 13) jednak takiej analizy nie przeprowadza. W badaniu behawioralnym stosowana była nagroda umieszczona w trzech ramionach 8-ramiennego labiryntu. Na podstawie wskazówek przestrzennych mysz musiała wykonać zadanie, polegające na zapamiętaniu położenia trzech ramion labiryntu zasocjowanych z nagrodą. Aby zróżnicować zwierzęta pod względem np. motywacji do poszukiwania nagrody bądź przetwarzania informacji o nagrodzie należało zwiększyć liczebność grup. W eksperymencie wykorzystanych zostało 19 zwierząt, gdzie na grupę przypadało 7 zwierząt oraz w części eksperymentów dodatkowo wykorzystano dwie myszy WT oraz 3 myszy APP/PS1. Wydaje się to mało liczebną grupą. W przyszłości warto byłoby spojrzeć na uzyskane wyniki z perspektywy występujących różnic indywidualnych w grupie. Jednocześnie ciekawie byłoby rejestrować pomiary czynności elektrycznej mózgu podczas testu w labiryncie. Czytając pracę odczuwa się wielkie zaangażowanie w badane

zagadnienie oraz wnikliwość Doktoranta, szczególnie w części obliczeniowej rozprawy. Interesującym elementem pracy jest analiza składu widmowego pojedynczych epizodów epileptycznych u myszy APP/PS1 wskazująca na zwiększony stopień pobudliwości sieci. Na stronie 42 (od linii 1) czytamy, że wyeliminowano fragmenty sygnałów zawierające zdarzenia o charakterze epileptycznym oraz artefakty pochodzące prawdopodobnie z zakłóceń odmięśniowych. Czy eliminacja tych sygnałów nie zaburzała rzeczywistego obrazu sygnału elektrofizjologicznego? Bardzo proszę odnieść się to tego zagadnienia podczas obrony pracy doktorskiej. Pomimo, że wszystkie osobniki APP/PS1 były heterozygotyczne względem każdego z transgenów co zostało potwierdzone reakcją PCR, to brakuje w rozprawie weryfikacji w tkankach obecności np. złogów amyloidu  $\beta$ .

Na stronie 42 opisana jest metoda automatycznej detekcji epizodów SWR w sygnałach rejestrowanych w polu CA1 hipokampa. Czytamy tam, że użyto do wyszukiwania fragmentów sygnału filtra pasmowo-przepustowego w paśmie 100-250 Hz gdzie jak czytamy we wstępie częstość oscylacji *ripple* wynosi 130-180 Hz. Podobnie w podpisie rysunku czytamy: Wykrywanie epizodów SWRs na podstawie sygnału przefiltrowanego w paśmie *ripple* 100-250 Hz. Czy Doktorant nie miał na myśli filtr, który przepuszcza pasmo oscylacji *ripple* (130-180 Hz)? Wykaz publikacji umieszczony na stronie 91 wskazuje na samodzielność Doktoranta co jest jednym z najważniejszych atutów zaraz po dociekliwości, którą Doktorant również się cechuje.

Podsumowując, uważam, iż praca doktorska mgr Bartosza Jura stanowi wartościową rozprawę, sumiennie wykonaną, opracowaną i napisaną. Stwierdzam, że praca doktorska mgr Bartosza Jura pt. "Dynamika oddziaływań między korą mózgową a hipokampem w trakcie konsolidacji pamięci przestrzennej w modelu choroby Alzheimerera u gryzoni", w pełni spełnia wszystkie wymagania stawiane rozprawom na stopień doktora, co stanowi podstawę wniosku kierowanego do Rady Naukowej Instytutu Biocybernetyki i Inżynierii Biomedycznej im. Macieja Nałęczka PAN.

