



Rzeszów 31.10.2022

**Recenzja rozprawy doktorskiej  
na stopień doktora nauk medycznych i nauk o zdrowiu  
w dyscyplinie nauki medyczne  
Pana mgra biol. Łukasza Przykazy  
Pt. „Potencjał neuroprotekcyny specyficznego agonisty receptora Y2  
neuropeptydu Y w udarze niedokrwiennym mózgu u szczurów  
normotensyjnych i szczurów z genetycznie uwarunkowanym nadciśnieniem  
tętnicznym SHR”  
Przygotowanej pod kierunkiem promotora –  
Prof. dr. hab. n. med. Ewy Koźniewskiej - Kołodziejkiej**

**1. Wstęp i uzasadnienie prawne oraz potwierdzenie kwalifikacji recenzenta**

Recenzja została sporządzona w związku z powołaniem przez Komisję ds. Przewodów i Postępowań Doktorskich Rady Naukowej Instytutu Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej im. Mirosława Mossakowskiego Polskiej Akademii Nauk (PAN) w Warszawie do pełnienia funkcji recenzenta w postępowaniu o nadanie stopnia naukowego doktora nauk medycznych Panu magistrowi Łukaszowi Przykazy. Zgodnie z art. 13 ust. 1 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule naukowym w zakresie sztuki (t.j. Dz.U. 2017 poz. 1789, dalej jako: u.s.n.), mającego zastosowanie w sprawie w związku z art. 175 ust. 1 Przepisów wprowadzających ustawę – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce z 20.lipca 2018 r. (Dz.U.2022.0.574 t.j., zwanego dalej u.s.w.), recenzent ocenia, czy rozprawa doktorska stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego oraz dowodzi ogólnej wiedzy teoretycznej doktoranta w zakresie danej dyscypliny, a także umiejętności samodzielnego prowadzenia pracy naukowej. Ustawowe kryteria uzasadniające otrzymanie stopnia doktora można podzielić na formalne i merytoryczne.

Zgodnie z art. 12 ust. 1 u.s.n. kryteria formalne to: posiadanie tytułu zawodowego magistra, zdane egzaminy doktorskie, przedstawiona i obroniona rozprawa doktorska. Kryteria te są poza zakresem oceny dokonywanej przez recenzenta w przewodzie doktorskim. Recenzent zakłada tutaj, że kryteria formalne zostały dopełnione i poddane pozytywnej weryfikacji ze strony samej Komisji ds. Przewodów i Postępowań Doktorskich Rady Naukowej PAN. Stąd uwaga moja, jako recenzenta koncentruje się na ocenie rozprawy doktorskiej, w zamierzeniu opisującej oryginalne rozwiązanie problemu naukowego (co znajduje wyraz w postawionej w niej tezie lub tezach szczegółowych), dowodzącej wiedzy teoretycznej doktoranta w zakresie nauk

medycznych, ze szczególnym uwzględnieniem analizowanego zagadnienia naukowo-badawczego, a także umiejętności samodzielnego prowadzenia pracy naukowej. Z perspektywy tych właśnie kryteriów zostanie oceniona rozprawa doktorska przedłożona w formie pisemnej przez Pana magistra Łukasza Przykaza. Moja ocena przedłożonej pracy oraz kwalifikacje do oceny ww. pracy jako recenzenta opierają się na doświadczeniu zdobytym w trakcie realizacji porównywalnych zagadnień badawczych (udokumentowanym dotychczasową aktywnością naukową, w tym publikacyjną oraz posiadaniem stopnia samodzielnego pracownika naukowego zgodnie z artykułem 190 u.s.w.) oraz opieką sprawowaną nad prowadzonymi w ośrodku zagranicznym wieloma projektami naukowo-badawczymi w zakresie dyscypliny nauki medyczne i pokrewne w roli równorzędnej do promotora pomocniczego.

## **2. Wybór tematyki pracy z uzasadnieniem oraz sformułowanie hipotezy badawczej**

Jednym z istotnych kryteriów oceny działalności badawczej w zakresie dyscypliny nauki medyczne jest jej powiązanie z problemem badawczym istotnym w kontekście klinicznym lub zmierzającym na zgłębienie podstaw biologicznych zagadnienia klinicznego. Pożądane (choć nie jako warunek *sine qua non* są ewentualne implikacje terapeutyczne prowadzonej aktywności badawczej. W tym zakresie zagadnienie analizowane przez Pana Łukasza Przykaza spełnia wszystkie ww. warunki. Zagadnienie udaru niedokrwiennego mózgu jako obszernej jednostki chorobowej, włączającej wiele postaci zaburzeń molekularnych, patofizjologicznych, strukturalnych (patomorfologicznych) a przede wszystkim funkcjonalnych wynikających z mniej lub bardziej nagłego wystąpienia głębokich zaburzeń ukrwienia mózgu nabiera na znaczeniu we współczesnych społeczeństwach krajów wysoko rozwiniętych, włączając społeczeństwo polskie. Mimo wysiłków medycyny prewencyjnej, zmierzających ku ograniczeniu ogólnego ryzyka sercowo-naczyniowego, ostrożne szacunki WHO oceniają liczbę osób, zapadających na udar niedokrwienny mózgu (w większości na postać ogniskowego udaru niedokrwiennego) na 15 milionów rocznie, z czego u 1/3 udar niedokrwienny staje się bezpośrednią przyczyną zgonu. Na uwagę zasługuje tu fakt, że szacunki te odnoszą się do liczby nowych zachorowań, podczas gdy obciążenie społeczeństwa i poszczególnych pacjentów oraz ich rodzin przez późne i przewlekłe następstwa udaru stają się wartością kumulatywną. Poza profilaktyką pierwotną oraz leczeniem następstw późnych udaru, pewną nadzieję wzbudzają działania z zakresu medycyny interwencyjnej, gdzie odpowiednio wczesne zrekanalizowanie naczynia, którego zamknięcie lub przewężenie doprowadziło do wystąpienia objawów udaru pozwala ograniczyć lub wręcz wyeliminować skutki zaburzeń perfuzji mózgu. Tu na uwagę zasługują, wymieniane przez pana Przykaza metody udroźnienia farmakologicznego (tzw. liza farmakologiczna skrzepu) lub mechanicznego (trombektomia endowaskularna) naczynia zaopatrującego mózg. Doświadczenia ostatnich lat, nacechowane są pewną zmianą paradygmatu, odnoszącego się do wartości klinicznej tych metod. O ile korzyści terapeutyczne, wynikające z odpowiednio wcześniej podjętej rekanalizacji nie podlegają dyskusji, o tyle zakres, w jakim przywrócenie drożności naczynia zaopatrującego mózg wpływa pozytywnie (bądź nawet negatywnie) na

funkcje samej tkanki nerwowej pozostaje przedmiotem ciągłej powtórnej oceny. Wynika to m. in. ze zwiększenia gęstości ośrodków prowadzących leczenie rekanalizujące ze zwyżką odsetka osób poddanych mniej lub bardziej skutecznemu udrożnieniu zaopatrującego część mózgu. W szczególności, fakt, że udarowi, jego skutkom oraz działaniom leczniczym (rekanalizacja) poddawana jest w warunkach klinicznych populacja niehomogenna, składająca się z osobników w różnym wieku oraz o zdywersyfikowanym profilu ryzyka naczyniowego, znacznie utrudnia oszacowanie potencjalnych skutków strukturalnych i funkcjonalnych udaru i jego reperfuzji. Stwarza to potrzebę, prowadzenia działań badawczych na znormalizowanym modelu eksperymentalnym, który uwzględniając przynajmniej jeden aspekt różnorodności populacji klinicznej jest w stanie dostarczyć opisu przebiegu patofizjologii udaru i reperfuzji w wystandaryzowanych warunkach eksperymentu biologiczno-medycznego. Tego rodzaju podejście najlepiej definiuje tzw. zakres tzw. medycyny translacyjnej, w mojej opinii reprezentowany również przez tematykę i sposób przeprowadzenia badań opisanych w recenzowanej rozprawie doktorskiej.

Pan Łukasz Przykaza podjął się w niej trudnego zadania zanalizowania zagadnienia różnic w odpowiedzi patofizjologicznej i patomorfologicznej na niedokrwienie z następczą reperfuzją, przenosząc problem obecności – lub braku – nadciśnienia tętniczego w przebiegu udaru na płaszczyznę eksperymentu *in vivo*. Jednak jako element główny wprowadzony został tu element terapeutyczny w postaci składnika potencjalnie neuroprotektynowego – specyficznego agonisty receptora Y2R. Receptor ten, i związany z nim układ białek G, zgodnie z wynikami najnowszych badań są elementami molekularnymi potencjalnie ograniczającymi działanie pobudzająco-toksyczne naturalnego neuroprzekaźnika- glutaminianu – uwalnianego w nadmiarze w przebiegu niedokrwienia tkanki nerwowej i prowadzącego do uszkodzeń wtórnych komórek nerwowych. To właśnie ocena ochronnego działania specyficznego agonisty receptora Y2 – czyli C-końcowego fragmentu cząsteczki neuropeptydu Y (NPY (13-36)) zarówno na komórki nerwowe, jak i na naczynia mikrokrazenia stał się głównym celem pracy. Domyślną hipotezą jest tu pozytywny wpływ ww. składnika molekularnego na przebieg po udarze i reperfuzji, dotyczący zarówno osobników obarczonych, jak i nie obarczonych czynnikiem ryzyka naczyniowego, jakim jest nadciśnienie tętnicze. Hipotezami szczegółowymi są tu oceny poszczególnych parametrów poudarowego uszkodzenia, włączając w to wskaźniki strukturalne (obszar udaru, gęstość naczyń mikrokrazenia, szczelność bariery krew - mózg) oraz funkcjonalne (parametry mikroprzepływu, włączając reaktywność mikrokrazenia oraz parametry aktywności motorycznej).

Podsumowując, tematyka pracy została niezmiernie starannie dobrana do aktualnego stanu wiedzy na temat skutków udaru i reperfuzji w heterogennej populacji osób z ogniskowym udarem niedokrwinnym. Autor rozprawy trafnie zauważył lukę informacyjną dotyczącą rozbieżności danych pochodzących z danych eksperymentalnych, gdzie populacje *in vivo* pozbawione są elementu ryzyka naczyniowego oraz zapotrzebowanie na leczenie uzupełniające do zabiegu rekanalizacji. Poprzez uwzględnienie w analizie cząstki NPY (13-36) jako dotychczas niewdrożonego do terapii klinicznej potencjalnego czynnika leczącego (ang. *candidate drug*) pan Przykaza dowiódł swego głębokiego wglądu w aktualny stan wiedzy w

zakresie dyscypliny medycznej co do (ograniczonych) możliwości farmakoterapii udaru oraz swojej aspiracji poddania analizie zagadnienia jak najbardziej aktualnego oraz obdarzonego potencjalnie bezpośrednimi implikacjami leczniczymi. Hipoteza badawcza (zadeklarowana jako cel badań) została jasno i poprawnie sformułowana, zarówno co do głównego celu, jak i częściowych zamierzeń projektu

### **3. Ocena merytoryczna pracy**

#### **a. Metodologia**

Recenzowaną pracę charakteryzuje rozbudowana metodologia eksperymentalna. W celu analizy wyżej opisywanych hipotez badawczych autor rozprawy posłużył się metodologią, w mojej ocenie kwalifikującą zakres wykonanych badań do zakresu medycyny translacyjnej (a zatem wchodzących ewidentnie w zakres dyscypliny nauki medyczne). Badania zostały przeprowadzone na dwóch szczepach samców szczurów, z czego 67 zwierząt scharakteryzowanych zostało jako linia podstawowa (*Sprague-Dawley* = SD) podczas gdy 62 zwierząt pochodziło z linii obciążonej spontanicznym nadciśnieniem tętniczym (*spontaneous hypertensive rats* = SHR). Jako podstawę eksperymentu użyto dobrze opisanego i powszechnie uznanego w dziedzinie neurologii i neurochirurgii eksperymentalnej modelu przejściowego niedokrwienia i reperfuzji tętnicy środkowej mózgu (*middle cerebral artery occlusion with reperfusion* = MCAOR). W celu analizy potencjalnego efektu leczniczego obie podgrupy (SD i SHR) podzielono na zwierzęta poddane pozorowanemu niedokrwieniu, 90-minutowemu niedokrwieniu z późniejszą reperfuzją, niedokrwieniu z reperfuzją przy podaniu intratekalnym (dokomorowym) substancji potencjalnie leczniczej (NPY (13-36)) w fazie niedokrwienia (30 min) oraz zwierzęta poddane niedokrwieniu / reperfuzji z następczą dokomorową terapią NPY (13-36) opóźnioną do 30 min po rozpoczęciu reperfuzji.

Następstwa udaru i terapii przeanalizowane zostały przy pomocy szeregu technik badawczych z zakresu patofizjologii i patomorfologii udaru, w tym z wykorzystaniem metod neurologicznej analizy funkcjonalnej. Już w trakcie fazy niedokrwienia, skuteczność zastosowanej okluzji naczynia względnie skutki wczesnej reperfuzji i podania substancji leczniczej oceniane były z użyciem pomiaru przepływu / mikrocyrkulacji na podstawie techniki LDF (z ang. *Laser-Doppler flow*). Metoda ta była powtórnie użyta do oceny reaktywności naczyń na wzrost pCO<sub>2</sub> i spadek produkcji tlenku (II) azotu NO w punkcie pośrednim (24h) eksperymentu. Badanie konsekwencji funkcjonalnych udaru, reperfuzji i względnie podania leku odbyło się na podstawie powtarzalnego pomiaru masy ciała oraz testów behawioralnych z analizą chodu oraz spontanicznej motoryki w teście otwartego pola. W punkcie deklarowanym jako maksymalne nasilenie udaru (72h) przeprowadzone zostały (po ocenie behawioralnej) badania morfologii udaru: wielkości uszkodzenia mózgu, gęstości naczyń mikrokrążenia i szczelności bariery krew-mózg.

Ocena statystyczna wyników odbyła się z użyciem kilku algorytmów, zależnych od rodzaju i ilości przeprowadzonych pomiarów (pomiar ciągły / kategoryzujący, pomiar jednorazowy lub wielokrotny), obejmujących analizę ANOVA, MANOVA i test T<sup>2</sup> Hotellinga.

W mojej ocenie, zastosowane metody badawcze zostały poprawnie dobrane do zagadnienia i zarysu badań oraz stanowią spójną całość. Na uwagę zasługuje tu pełność uzyskanego zakresu wyników, które nie ograniczały się wyłącznie do analizy morfologicznej lub analizy funkcjonalnej, lecz objęły oba ww. obszary. Również selekcja punktów czasowych i sekwencja przeprowadzonych badań jest jak najbardziej poprawna i trafnie dobrana do analizowanego zagadnienia klinicznego. Użycie dwóch podgrup (zwierzęta obarczone dodatkowym czynnikiem ryzyka naczyniowego w postaci nadciśnienia oraz wolne od tego obciążenia) nadaje całej metodologii dodatkowej wartości w świetle możliwości interpolacji wyników i wniosków na płaszczyznę kliniczną. Zarówno dobór metod kalkulacji, jak i sposób przeprowadzenia analizy statystycznej jest adekwatny do uzyskanych w ramach eksperymentu danych. Dokumentacja metodyki nie pozwala też dopatrzeć się żadnych uchybień w odniesieniu do aspektu etycznego eksperymentu z użyciem zwierząt (udokumentowana zgoda komisji bioetycznej oraz wdrożenie metod zwiększających potencjał porównawczy i translacyjny w świetle strategii ograniczenia cierpienia zwierząt laboratoryjnych zgodnie ze spopularyzowanym paradygmatem 4R). Poprzez użycie powszechnie zaakceptowanego modelu udaru mózgu z reperfuzją, autor rozprawy w celowy i trafny sposób umożliwia porównanie wyników badań własnych z równoległe prowadzonymi eksperymentami w tym zakresie, stwarzając przedpole zarówno do wielośrodkowej dyskusji, jak i do potencjalnej współpracy w zakresie neurologii eksperymentalnej / translacyjnej.

Reasumując, metodyka pracy reprezentuje rozbudowany, pełny i spójny plan odpowiedzi na hipotezę badawczą z użyciem nowoczesnych, oryginalnych w swym doborze, a jednocześnie powszechnie akceptowanych metod badawczych. Przez opis metodyki przebija ponadprzeciętny nakład pracy związany z przeprowadzeniem eksperymentów i równocześnie wysoka rzetelność w realizacji projektu oraz chęć pełnej odpowiedzi na wszystkie postawione przez hipotezę badawczą pytania. Spełnianie kryteriów medycyny translacyjnej przez metodologię badań zapewnia ich bezpośredni związek z praktycznymi, klinicznymi zagadnieniami jako punktem wyjściowym hipotezy badawczej.

## **b. Uzyskanie wyniki**

Użycie opisywanych powyżej metod badawczych zaowocowało szeregiem obserwacji, istotnych głównie dla dalszej krytycznej oceny składnika NPY (13-36) jako potencjalnego środka terapeutycznego w leczeniu skutków udaru niedokrwienego z reperfuzją. Również analiza różnic między grupami eksperymentalnymi dotkniętymi nadciśnieniem tętniczym i wolnych od tego obciążenia przyniosła szereg istotnych z punktu widzenia medycyny klinicznej wniosków. Zakres udaru był wyraźnie większy u szczurów obarczonych nadciśnieniem tętniczym (SHR), przy redukcji obszaru uszkodzenia morfologicznego przez wczesne i opóźnione podanie NPY (13-36) zarówno u osobników pierwotnie zdrowych, jak i z nadciśnieniem tętniczym. U osobników bez wyjściowego nadciśnienia tętniczego, wczesne podanie NPY (13-36) (w fazie niedokrwienia) zaowocowało inicjalną rekrutacją mikrokrażenia wg pomiaru LDF w tzw. półcieniu ogniska udarowego (penumbrze). U zwierząt SHR natomiast, późne (faza reperfuzji) podanie terapeutyku przywracało częściowo odpowiedź na zablokowanie syntezy NO. Korzystna odpowiedź funkcjonalna ograniczona była do

poprawy sprawności chodu w grupie SD i SDH, szczególnie przy wczesnym podaniu NPY (13-36), bez poprawy spontanicznej aktywności ruchowej. Co istotne, rozmiar morfologicznego uszkodzenia mózgu w istotny sposób korelował z większością parametrów chodu.

Uzyskane przez pana Przykaza wyniki badań niosą ze sobą głębokie implikacje, zarówno w zakresie medycyny eksperymentalnej jak i klinicznej. Najistotniejsza jest informacja o skuteczności NPY (13-36) w ograniczaniu morfologicznych oraz części funkcjonalnych następstw udaru i reperfuzji. Jest to doskonały punkt wyjścia do kontynuacji zbliżonych serii badań pod kątem możliwości zastosowania ww. środka w szerzej zakrojonych projektach translacyjnych jak i klinicznych. Równie istotną dodatkową korzyścią z przeprowadzonych badań jest ukazanie wyraźnej różnicy w odpowiedzi patofizjologicznej na udar i reperfuzję między osobnikami pierwotnie zdrowymi oraz obciążonymi wyjściowym zaburzeniem regulacji ciśnienia tętniczego krwi. Jest to o tyle istotne, że znaczna subpopulacja pacjentów (po-)udarowych to właśnie osoby z nieprawidłowym profilem ryzyka sercowo-naczyniowego, włączając nadciśnienie tętnicze. Pan Przykaza na podstawie swoich wyników jednoznacznie dokumentuje, że skuteczność działań lub preparatów pozytywnie przetestowanych u zdrowych zwierząt lub nawet zdrowych ludzkich probantów nie musi oznaczać ich skuteczności (lub bezpieczeństwa) w grupie docelowej obciążonej specyficznym ryzykiem. Wreszcie, w sposób wyraźny ukazana jest znaczna, lecz niepełna spójność wyników testów morfologicznych i funkcjonalnych. Implikuje to, że nie każda (eksperymentalna) metoda lecznicza, redukująca zakres udaru będzie skuteczna w odniesieniu do łagodzenia jego następstw funkcjonalnych.

Reasumując uzyskane przez pana Przykaza wyniki badań: stanowią one wyraźną odpowiedź na zadane w hipotezie badawczej pytanie. Poprzez sumienną przeprowadzoną analizę, zrealizowany zostaje nie tylko główny cel badań, ale również potwierdzona zostaje wiarygodność zastosowanej metodyki. Rozbicie odpowiedzi zawartej w hipotezie na składniki częściowe, tj. skrupulatne zróżnicowanie między korzyściami leczenia NPY (13-36) przy podaniu wczesnym względnie opóźnionym na korzyść terapeutyczną w odniesieniu do strukturalnych ale i funkcjonalnych następstw udaru ogniskowego z reperfuzją stanowi doskonały punkt wyjścia do wyczerpującej dyskusji, zawartej w rozprawie.

### **c. Dyskusja**

Zwieńczenie rozprawy pana Przykazy stanowi dyskusja przeprowadzona na podstawie wyników własnych w odniesieniu do prac i opracowań publikowanych wcześniej / równoległe przez własną i konkurujące grupy badawcze. W dyskusji autor odnosi się do kwestii korzyści badawczych spodziewanych przy wyborze konkretnego modelu eksperymentalnego oraz odnosi się do poszczególnych grup uzyskanych rezultatów. W odniesieniu do ograniczania zakresu morfologicznego strefy udarowej i penumbry w sposób trafny podkreślona jest różnica w spontanicznym przebiegu udaru i w efekcie terapeutycznym testowanego związku NPY (13-36) między zwierzętami eksperymentalnymi z i bez spontanicznego nadciśnienia. Tutaj trafna jest również interpretacja potencjalnego podłoża biomolekularnego i nanostrukturalnego (w odniesieniu do funkcji tzw. jednostki nerwowo-naczyniowej) skuteczności działania protekcyjnego NPY (13-36). Autor zachowuje również niezbędny dystans do

pozytywnych wyników własnych eksperymentów w kontekście ograniczonej skuteczności w odniesieniu do aktywności motorycznej / ruchowej. Tu poruszona jest kwestia podłoża patofizjologicznego obserwowanych zaburzeń oraz inwazyjności związanej z aplikacją testowanego preparatu bezpośrednio dokomorowo (tzw. efekt *true sham*). Poprawnie interpretowane są wyniki badań własnych odnośnie zmiany reaktywności naczyń mózgowych na zmiany stężenia CO<sub>2</sub> i NO w odniesieniu do wcześniejszej literatury omawiającej zaburzenia regulacji mikrokrażenia występujące po udarze. Szczególnie interesujący jest koncept stresu oksydacyjnego jako ogniwa kaskady przyczynowo - skutkowej powiązanej ze zjawiskami niedokrwienia i przekrwienia, obserwowanymi w strefie penumbry. Dzięki wnikliwej analizie wcześniejszych publikacji, autor jest w stanie powiązać wcześniejsze koncepcje zaburzeń regulacji funkcji jednostki naczyniowo-nerwowej z obserwowaną przez niego podatnością grupy hipertensyjnej (SHR) na korzystne oddziaływanie cząstki peptydowej NPY (13-36). Równie interesujące są zawarte w dyskusji próby logicznego powiązania opisywanych rezultatów badań własnych ze wcześniejszymi koncepcjami angiogeny. Interpretacje te pozwala na ewentualne budowanie dalszych hipotez i kontynuację badań w zakresie medycyny translacyjnej w danej i podobnych jednostkach chorobowych, zgodnie z deklaracją pana Przykaza w ostatniej części jego dyskusji.

#### **4. Ocena formy pracy**

W odniesieniu do rozprawy jako formy pisemnej komunikacji w akademickim środowisku naukowym, przedłożona struktura pracy badawczej i sposób przekazywania wyników badań oraz własnych koncepcji świadczy o głębokiej dojrzałości i doświadczeniu autora co do kompozycji publikacji naukowych. Wynika to prawdopodobnie m. in. z jego wcześniejszej działalności jako współautora znaczących, wysoko indeksowanych publikacji naukowych oraz z przedstawienia wyników badań w postaci wystąpień konferencyjnych (rozprawa zawiera tu odniesienie do 2 publikacji własnych i jednego posteru konferencyjnego jako owoców pracy naukowej nad projektem).

Sama rozprawa rozbudowana jest w typowy, poprawny i bardzo przejrzysty sposób. Wstęp (s. 1-31) zawiera łatwą do prześledzenia analizę wstępną problemu badawczego oraz bardzo dogłębne opisanie dotychczas funkcjonujących koncepcji badawczych. Przez cały wstęp przewija się istotny wątek istotności zaplanowanych badań w kontekście klinicznym. Wstęp zawiera również wystarczające uzasadnienie dla podjęcia wyzwania, związanego z realizacją zamierzenia naukowego (czyli realizacji projektu naukowego). Cele projektu, interpretowane jako rozbudowana hipoteza badawcza są przekazane czytelnikowi w bezpośredni i zrozumiały sposób (s. 32). Metodologia pracy (s. 33-45) zawiera wymagany przez konsensus badawczy opis sposobu wykonania badań i ich analizy, który przez swą precyzyjność pozwoliłby na potencjalne zreplicowanie badań lub użycie tej samej metodologii w innym, zbliżonym koncepcie badawczym. Wyniki przeprowadzonych eksperymentów (s. 43-73) podane są w sposób ustrukturyzowany, systematyczny i łatwy do prześledzenia w odniesieniu zarówno do metodologii jak i późniejszej dyskusji. Sama dyskusja (s. 74-89) ukształtowana jest również w sposób systematyczny i nie zawiera dystrahujących wątków pobocznych, lecz skupiona jest na ocenie uzyskanych rezultatów w

kontekście kluczowych wcześniejszych publikacji. Tu obszerna literatura (s. 92 -103; licząca 205 pozycji), zawierająca w większości prace oryginalne z ostatnich dziesięcioleci stanowi doskonałą podstawę całej rozprawy, dokumentującą jej osadzenie na mocnych fundamentach wcześniejszego doświadczenia badawczego i koncepcji ukutych przez rozliczne grupy badawcze i eksperymentalne. Rozległość i sposób cytowania literatury stanowi też niepodważalne udokumentowanie bardziej niż wystarczającej wiedzy teoretycznej pana Przykazy w zakresie ogólnej i szczegółowej wiedzy odnoszącej się do analizowanego problemu.

Osobnym atutem rozprawy jest sposób przekazania informacji. Język, używany przez pana Przykaze odpowiada wszystkim wymaganym standardom publikacji naukowej i, zarówno w zasadniczej części pracy, jak i w anglojęzycznym streszczeniu (*summary*) jest poprawny, przyjazny dla czytelnika i nacechowany swobodą przekazu. Sposób formułowania zdań i myśli sprzyja łatwemu przyswojeniu sobie treści zawartych w pracy. Bogactwo wizualne rozprawy podkreśla nie tylko ilość (29 rycin i 9 tabel) ale przede wszystkim jakość załączonego materiału ilustracyjnego. Tu tabele charakteryzują się wyjątkową przejrzystością, a ilustracje, zwłaszcza w odniesieniu do mikrofotografii, w sposób wymowny dokumentują charakter uzyskanych rezultatów.

## 5. Uwagi krytyczne

Całość rozprawy doktorskiej jako udokumentowania przeprowadzonego zamierzenia badawczego prezentuje się w sposób wyjątkowo spójny i trudno doszukać się możliwości jej dalszego udoskonalenia. Z punktu widzenia badacza doświadczonego w dziedzinie badań translacyjnych dotyczących symulacji jednostek klinicznych w modelu zwierzęcym, chciałbym tu zwrócić uwagę na kilka aspektów:

- W rozważaniach wstępnych, dotyczących możliwości rekanalizacji naczyń zaopatrujących mózg, a zablokowanych przez udar, główny nacisk położony jest na leczenie fibrynolityczne, gdzie mechaniczna rekanalizacja (trombektomia), choć opisana, znajduje się niejako „w cieniu” wcześniej opisywanej trombolizy farmakologicznej. Doświadczenia ostatnich lat wskazują na rosnące znaczenie trombektomii endowaskularnej i coraz większą liczbę przypadków poddanych temu leczeniu. Co istotne, fakt ten stanowi jeszcze lepszą argumentację do przeprowadzenia opisywanych badań w kontekście uzupełnienia rekanalizacji naczyń mózgowych przez suplementarną farmakoterapię (neuro-) protekcyjną (np. z użyciem NPY (13-36))
- W zakresie metodyki, interesującym uzupełnieniem byłoby dołączenie grupy eksperymentalnej, poddanej działaniu peptydu NPY (13-36) dwukrotnie, tj. raz po wystąpieniu udaru oraz po raz wtóry po (skutecznej) rekanalizacji.
- Podkreśliłbym również w sposób wyraźniejszy znaczenie użycia dwóch punktów czasowych podania substancji testowej w kontekście medycyny translacyjnej. Tu pierwszy z punktów (30 min od wystąpienia udaru) mógłby zostać odniesiony do tzw. złotej godziny, gdzie niekiedy jeszcze w warunkach przedszpitalnych stosowane są metody terapeutyczne zmierzające do



ograniczenia skutków niedokrwienia mózgu. Z kolei drugi z nich odzwierciedla dość wiernie sytuację kliniczną, gdzie stwierdzona jest reperfuzja mózgu i możliwe byłoby podjęcie decyzji co do wdrożenia farmakoterapii uzupełniającej wtórnej do skutecznej rekanalizacji

- Szata graficzna wykresów, mimo iż dostatecznie przejrzysta, wymusza u czytelnika dokładniejsze śledzenie paneli prezentowanych wyników w odniesieniu do subgrup SD i SHR zwierząt eksperymentalnych. Ewentualne użycie odmiennych odcieni lub faktur wykresów belkowych ułatwiłoby interpretację wyników przez czytelnika pracy
- W tekście kilkakrotnie użyte jest odniesienie „metaanaliza” w odniesieniu do wyekstrahowanych wyników jednoośrodkowego, jednorazowego projektu badawczego. Tu nomenklatura badawcza ogranicza użycie tego określenia do wtórnej analizy wyników wielu podobnych (niekoniecznie całkowicie spójnych) projektów, pozwalających na grupowanie rezultatów różnych grup badawczych, połączonych wspólnym mianownikiem pewnych elementów metodologii i celów badania.

Przedstawione przeze mnie uwagi krytyczne nie umniejszają jednak wysokiej wartości merytorycznej i formalnej recenzowanej przeze mnie rozprawy i powinny być raczej potraktowane jako punkt wyjścia do dalszego doskonalenia warsztatu badawczego i publikacyjnego, który u pana Łukasza Przykazy charakteryzuje się już teraz ponadprzeciętnie wysokim poziomem.

## **6. Wniosek o kontynuowanie przewodu oraz o wyróżnienie z uzasadnieniem**

W oparciu o powyższą recenzję, z pełnym przekonaniem stwierdzam, że oceniana rozprawa doktorska spełnia, a nawet przewyższa wszystkie wymogi stawiane rozprawie na stopień doktora i zgodnie z art. 13 Ustawy o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz stopniach i tytule w zakresie sztuki z dnia 14 marca 2003 roku (Dz. U. z 2003 r., Nr 65, poz. 595, z późn. zm.). W związku z tym rekomenduję Radzie Naukowej Instytutu Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej im. Mirosława Mossakowskiego PAN w Warszawie dopuszczenie Pana magistra Łukasza Przykazy do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

W uzasadnieniu i w nawiązaniu do opisanych powyżej mocnych stron recenzowanej pracy muszę podkreślić, że wykazuje ona szereg cech zasługujących na jej wyróżnienie. Spójny, nowoczesny i niezmiernie rozbudowany warsztat badawczy, z przebijającym z opisu metodologii znacznym nakładem pracy i zaangażowania w przeprowadzenie eksperymentów to pierwszy z atutów. Zrealizowane zamierzenie badawcze wyróżnia się również wyjątkową trafnością co do ważności analizowanego tematu, przy oryginalności samej hipotezy badawczej i sposobie przeprowadzenia analizy. Pan Przykaza w załączonej pracy udokumentował także nie tylko pełną suwerenność w opracowaniu zagadnienia badawczego, lecz również wielką swobodę w formułowaniu koncepcji naukowej, prezentacji wyników badań i samokrytycznej dyskusji nad nimi w świetle dostępnej, rozległej literatury tematu i zagadnień pokrewnych. Co najistotniejsze, przedłożona praca eksperymentalna wykazuje rzadko spotykane, głębokie odniesienie do zagadnień klinicznych. Pozwala to spodziewać się jej znaczącego wpływu na tworzenie klinicznych koncepcji

terapeutycznych w przyszłości. Z uwagi na opisane powyżej cechy ponadprzeciętnego wysiłku i nadzwyczajnej wartości uzyskanych efektów dla dyscypliny nauk medycznych wnioskuję o uhonorowanie recenzowanej pracy i jej Autora wyróżnieniem oraz najwyższą oceną przewidzianą w trybie postępowania w sprawie nadania stopnia doktora (bardzo dobry (bdb) wg ustawodawstwa polskiego, *summa cum laude* zgodnie z tradycyjną akademicką i / lub międzynarodową gradacją).



Dr. hab. n. med. Jacek Szczygielski  
prof. UR, MBA