



Kraków, 02-12-2025

Prof. dr hab. Agnieszka Nikiforuk

Zakład Badań Nowych Leków
Instytut Farmakologii im. Jerzego Maja PAN
ul. Smętna 12
31-343 Kraków

RECENZJA

rozprawy doktorskiej mgr Urszuli Włodkowskiej zatytułowanej:

***"Wewnątrzosobnicze różnice w reprezentacji neuronalnej wizualnych wskazówek przestrzennych
w korze retrosplenialnej"***

Rozprawa doktorska Pani mgr Urszuli Włodkowskiej, wykonana pod kierunkiem Pana dr hab. Rafała Czajkowskiego, wpisuje się w nurt badań nad neuronalnymi mechanizmami integracji informacji przestrzennej i percepcyjnej. Autorka podjęła się próby odpowiedzi na pytanie, czy kora retrosplenialna (RSC) tworzy stabilne reprezentacje kontekstu przestrzennego oraz kategorii bodźców wizualnych. Badanie oparto na analizie zmian aktywności neuronalnej w odpowiedzi na różne strategie nawigacyjne i typy wskazówek wizualnych. Tematyka ta ma istotne znaczenie dla zrozumienia funkcjonalnej organizacji sieci mózgowych odpowiedzialnych za orientację przestrzenną i przetwarzanie informacji kontekstowych.

Jest to klasyczna rozprawa doświadczalna, obejmująca 131 stron, o przejrzystej strukturze zgodnej z obowiązującymi wymogami. Zasadniczą część poprzedzają: Spis treści, Streszczenie (w języku polskim i angielskim) oraz alfabetyczny wykaz stosowanych skrótów. Kluczowe rozdziały obejmują: Wstęp, Cele pracy, Materiały i metody, Wyniki, Dyskusję, Podsumowanie i wnioski oraz Bibliografię. Całość została starannie przygotowana zarówno pod względem merytorycznym, jak i edytorskim oraz językowym, a dokumentacja graficzna obejmuje 26 rycin.

Wstęp stanowi uporządkowane wprowadzenie do zagadnień poruszanych w rozprawie. W pierwszym rozdziale Doktorantka przedstawia podstawy pamięci przestrzennej i mechanizmy nawigacji, podkreślając rolę mapy kognitywnej jako kluczowego sposobu orientacji w przestrzeni. Omawia również komplementarność strategii allocentrycznej i egocentrycznej oraz ich powiązania z pamięcią epizodyczną i semantyczną.

Następna część pracy ukazuje ewolucję badań nad neuronalnymi podstawami pamięci przestrzennej – od pierwszych koncepcji formułowanych już na przełomie XIX i XX wieku po odkrycia komórek

modulowanych przestrzennie. Komórki te tworzą zintegrowane systemy reprezentacji przestrzeni, których aktywność zależy od kontekstu, modalności sensorycznych oraz perspektywy.

W dalszej części wstępu omówiono rolę kory retrosplenialnej w procesach pamięci przestrzennej. Autorka podkreśla jej znaczenie jako węzła komunikacyjnego łączącego obszary sensoryczne ze strukturami odpowiedzialnymi za pamięć i nawigację. Zwraca również uwagę, że istotnym wyzwaniem pozostaje opracowanie paradygmatów badawczych, które przy wykorzystaniu naturalnego repertuaru zachowań gryzoni umożliwią wnioskowanie o złożonych mechanizmach funkcjonowania RSC.

Kolejna część wprowadzenia poświęcona jest metodom behawioralnym stosowanym w badaniach pamięci, ze szczególnym uwzględnieniem labiryntów jako podstawowych narzędzi eksperymentalnych. Autorka przedstawia rozwój ich zastosowań (od pionierskich eksperymentów po współczesne paradygmaty) oraz omawia różnice między strategiami egocentrycznymi (opartymi na własnym ciele) a allocentrycznymi (wykorzystującymi zewnętrzne wskazówki). Zwraca przy tym uwagę, że wobec dużej różnorodności metod szczególnego znaczenia nabiera umiejętność formułowania trafnych i nowatorskich pytań badawczych.

Wstęp zamyka omówienie znaczenia genów wczesnej odpowiedzi w badaniach nad pamięcią. Autorka przedstawia ich rolę jako molekularnego łącznika między aktywnością neuronalną a długotrwałymi zmianami w komórkach nerwowych. Szczególną uwagę poświęca badaniom nad genem *c-Fos* i jego zastosowaniu jako markera aktywności neuronalnej, podkreślając znaczenie tych mechanizmów dla zrozumienia plastyczności synaptycznej i procesów uczenia.

Podsumowując, w części wstępnej rozprawy Autorka wykazała się znakomitą orientacją w tematyce oraz znajomością zarówno klasycznych koncepcji, jak i najnowszych badań eksperymentalnych. Na szczególne podkreślenie zasługuje umiejętność łączenia różnych poziomów analizy procesów poznawczych: behawioralnego, neurofizjologicznego i molekularnego, co świadczy o szerokiej i dojrzałej perspektywie badawczej Autorki. Wstęp jest spójny, merytorycznie poprawny i stanowi solidne tło teoretyczne dla dalszej części pracy. Z punktu widzenia struktury rozprawy warto byłoby jednak mocniej zaakcentować powiązanie przeglądu literatury z własnym projektem badawczym. Wskazanie, w jaki sposób opisane mechanizmy i koncepcje stanowią bezpośrednie uzasadnienie postawionych hipotez, pozwoliłoby lepiej uwidocznić logikę przejścia od części teoretycznej do doświadczalnej. Dobrym uzupełnieniem mogłyby być również krótkie podsumowania po każdym z podrozdziałów, porządkujące najważniejsze wnioski.

Celem rozprawy było zbadanie roli kory retrosplenialnej w procesach pamięci przestrzennej i nawigacji, ze szczególnym uwzględnieniem jej funkcji integracyjnej między strategiami egocentrycznymi

a allocentrycznymi. Autorka dążyła do ustalenia, czy RSC tworzy stabilne reprezentacje neuronalne kontekstu przestrzennego oraz sposobu identyfikacji bodźców. W ramach pracy zrealizowano szereg celów szczegółowych, obejmujących opracowanie schematu analizy obrazów z mikroskopii dwufotonowej, identyfikację populacji neuronów kodujących kontekst oraz ocenę aktywacji struktur mózgowych w zależności od złożoności wskazówek i fazy zadania behawioralnego.

Sformułowane przez Autorkę cele logicznie wynikają z przeglądu literatury zawartego we Wstępie. Na uwagę zasługuje oryginalne podejście badawcze Autorki, a także szeroki zakres pracy, integrującej różne poziomy analizy przy wykorzystaniu nowoczesnych metod eksperymentalnych. Pewne zastrzeżenia może budzić brak wyraźnie sformułowanej hipotezy głównej oraz duża liczba celów szczegółowych, z których część ma raczej charakter opisowy. Warto by również wyraźniej podkreślić, w jaki sposób uzyskane wyniki miałyby się przyczynić do lepszego zrozumienia funkcji RSC.

Metody badawcze zastosowane przez Autorkę w realizacji założonych celów zostały opisane bardzo szczegółowo. W pracy wykorzystano zaawansowany, wielopoziomowy paradygmat łączący zautomatyzowany labirynt typu T z kontrolowanymi wskazówkami wizualnymi, przyżyciowe obrazowanie aktywności neuronalnej przy użyciu mikroskopii dwufotonowej oraz analizę rozmieszczenia białka c-Fos w całym mózgu. Na szczególną uwagę zasługuje jasny opis konstrukcji i funkcjonowania labiryntu T, wysoki stopień jego automatyzacji oraz przejrzysta logika zaprojektowanych badań behawioralnych. Cennym elementem jest również spójne powiązanie poziomu behawioralnego z neuronalnym, konsekwentnie realizowane w całym paradygmacie. Warte odnotowania pozostaje ponadto wykorzystanie złożonych metod statystycznych, adekwatnych do charakteru danych. Całość uzupełniają klarowne ilustracje, które znacząco ułatwiają orientację w złożonym układzie eksperymentalnym.

Moja uwaga dotyczy doboru liczebności grup. Wyraźna dysproporcja samców i samic w poszczególnych eksperymentach nie pozwala na jednoznaczną ocenę potencjalnych różnic płciowych, mimo formalnego uwzględnienia tego czynnika w analizach. Choć ograniczenia techniczne są przez Autorkę omówione, tak zaawansowany i ambitny schemat eksperymentalny zasługiwałby na bardziej przemyślany dobór liczebności, zwłaszcza w kluczowych analizach neuronalnych, które miejscami opierają się na bardzo małych podgrupach (np. 6 zwierząt). Istotnie obniża to moc statystyczną i utrudnia jednoznaczną interpretację obserwowanych efektów.

Wyniki behawioralne pierwszego eksperymentu wskazują, że myszy skutecznie opanowały zadanie oparte na sygnałach wizualnych, jednak ich wydajność stopniowo spadała w trakcie testów oraz po przerwie. Jak sugeruje Autorka, może to oznaczać, że strategia oparta na bodźcach wizualnych nie została w pełni zinternalizowana i może ulegać modyfikacjom w odpowiedzi na zmieniające się warunki

eksperymentalne. W badaniu z wykorzystaniem przyżyciowej mikroskopii dwufotonowej nie znaleziono dowodów na to, że populacje aktywnych neuronów zarejestrowane w obszarze RSC po poszczególnych sesjach testowych wykazują większe podobieństwo, gdy zwierzę było eksponowane na kontekst związany z tym samym kierunkiem skrętu, niż w przypadku kierunków przeciwnych. Z kolei analiza zmian intensywności fluorescencji wskazała, że aktywność neuronów ulega subtelny modyfikacjom zależnym od kontekstu. Przy zmianie bodźca wizualnego część neuronów wykazywała niewielkie osłabienie aktywności, natomiast ponowna ekspozycja na ten sam kontekst wiązała się z jej lekkim wzmocnieniem. Kolejne badania, przeprowadzone po czterotygodniowej przerwie, również nie dostarczyły dowodów na specyficzną reprezentację pamięciową w RSC. Stabilność populacji neuronów i hierarchia ich aktywności pozostawały niezależne od prezentowanego kontekstu, a zaobserwowane różnice ograniczały się jedynie do niewielkich zmian fluorescencji w populacji komórek stabilnych.

W eksperymentach 2 i 3, przeprowadzonych z wykorzystaniem złożonego układu wskazówek, myszy również potrafiły skutecznie nawigować, jednak ich wydajność zależała od rodzaju bodźca. Ich nawigacja, oparta wyłącznie na wskazówkach kontekstowych, była wyraźnie mniej precyzyjna zarówno względem treningu, jak i wskazówki landmark. Kolejne analizy wykazały, że zarówno liczba aktywnych komórek c-Fos w RSC, jak i dynamika ich aktywności nie różnią się istotnie między sesjami, niezależnie od rodzaju wskazówek. Jednocześnie ujawniono silny efekt odległości czasowej, przejawiający się spadkiem retencji komórek między kolejnymi dniami, co może maskować subtelne różnice związane z typem bodźców. Analiza zmienności intensywności fluorescencji również nie wykazała istotnych różnic między sesjami z różnymi typami wskazówek, a jedynie niewielkie trendy. Podobnie badanie neuronów selektywnych względem sesji nie wykazało wyraźnych populacji komórek specyficznych dla typu wskazówki, a obserwowane różnice były niewielkie. Ostatni etap badań, obejmujący analizę aktywacji całego mózgu w odpowiedzi na różne typy wskazówek wizualnych, także nie wykazał wyraźnych różnic we wzorcach aktywacji.

Podsumowując, w sekcji Wyniki Autorka przedstawiła bardzo rozbudowany i wielopoziomowy zestaw analiz. Na szczególne podkreślenie zasługuje konsekwentne stosowanie zaawansowanych metod statystycznych oraz dbałość o weryfikację założeń i stabilności wniosków. Autorka rzetelnie raportuje również wyniki nieistotne statystycznie i starannie omawia potencjalne czynniki zakłócające. Warto byłoby jednak zadbać o bardziej jednoznaczne podsumowania poszczególnych sekcji, jasno wskazujące, czy dany efekt został wykazany, czy nie, co ułatwiłoby czytelnikowi orientację w dużej liczbie szczegółowych analiz. Zasadne wydaje się także dodanie krótkiego zestawienia zbiorczego, porządkującego główne wnioski. Podobnie, rozdział „Podsumowanie i wnioski” ma w dużej mierze charakter interpretacyjny, a jego konkluzje nie zawsze wynikają bezpośrednio z przedstawionych danych; warto byłoby go doprecyzować tak, aby ściślej odzwierciedlał uzyskane wyniki.

Sekcja Dyskusji w rozprawie doktorskiej jest obszerna i wielowątkowa, a zarazem świadczy o znakomitej orientacji doktorantki w literaturze przedmiotu. Autorka konsekwentnie odnosi uzyskane wyniki do współczesnych koncepcji neurobiologicznych oraz umiejętnie integruje dane pochodzące z różnych poziomów analizy. Prezentowane interpretacje są dojrzałe i dobrze przemyślane; obejmują zarówno omówienie pozytywnych rezultatów, jak i próbę wyjaśnienia braku oczekiwanych efektów. Autorka potrafi również trafnie wskazać ograniczenia wynikające z zastosowanej metodologii oraz specyfiki wybranego paradygmatu behawioralnego.

W dyskusji brakuje jednak wyraźnej, syntetycznej konkluzji, która jednoznacznie podsumowywałaby najważniejsze wnioski płynące z pracy. Lektura rozdziału Wyniki pozostawia wrażenie, że większość kluczowych hipotez dotyczących selektywnej roli RSC w reprezentacji kontekstu i złożonych wskazówek nie znalazła jednoznacznego potwierdzenia. Bogactwo omawianych odniesień literaturowych oraz szeroka dyskusja stanowią niewątpliwie mocną stronę pracy, jednak pozostają w pewnym kontraście do faktu, że znaczna część uzyskanych rezultatów ma charakter negatywny lub graniczny. W efekcie może pojawiać się wrażenie nadmiernej interpretacji efektów, które są statystycznie subtelne.

Podsumowując, oceniana rozprawa doktorska **prezentuje ogólną wiedzę teoretyczną** Kandydatki, która trafnie i kompetentnie osadza swoje badania w szerszym kontekście literatury. Pani mgr Urszula Włodkowska **wykazuje umiejętność samodzielnego prowadzenia pracy naukowej**, czego wyrazem jest konsekwentne zaplanowanie i przeprowadzenie złożonego projektu badawczego oraz świadoma analiza uzyskanych wyników. Rozprawa stanowi również **oryginalne rozwiązanie problemu naukowego**, podejmując w nowatorski sposób zagadnienie neuronalnej reprezentacji kontekstu i wskazówek wizualnych.

Uważam, że rozprawa doktorska Pani mgr Urszuli Włodkowskiej zatytułowana „*Wewnątrzsobnicze różnice w reprezentacji neuronalnej wizualnych wskazówek przestrzennych w korze retrosplenialnej*” spełnia warunki określone w art. 187 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2024 r. poz. 1571 z póź. zm.). W związku z powyższym, wnioskuję do Rady Naukowej Instytutu Biologii Doświadczalnej o dopuszczenie **mgr Urszuli Włodkowskiej do dalszych etapów postępowania w sprawie nadania stopnia doktora.**

Agnieszka Nikiforuk



Samodzielna Pracownia Badań Behawioralnych
Uniwersytet Medyczny w Lublinie
ul. Chodźki 1, 20-093 Lublin
tel. +48 81448 6196



Independent Laboratory of Behavioral Studies
Medical University of Lublin
1 Chodzki str., 20-093 Lublin, Poland
phone: +48 81448 6196

Lublin dnia 12 grudnia 2025

prof. dr hab. Barbara Budzyńska
Samodzielna Pracownia Badań Behawioralnych
Wydział Nauk Medycznych
Uniwersytet Medyczny w Lublinie

RECENZJA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

mgr Urszuli Włodkowskiej

pt. „Wewnątrzsobnicze różnice w reprezentacji neuronalnej wizualnych wskazówek przestrzennych w korze retrosplenialnej”

Przedłożona do recenzji rozprawa doktorska pt „Wewnątrzsobnicze różnice w reprezentacji neuronalnej wizualnych wskazówek przestrzennych w korze retrosplenialnej” złożona przez mgr Urszulę Włodkowską została napisana pod kierunkiem dr hab. Rafała Czajkowskiego, prof. Instytutu Nenckiego. Badania zostały zrealizowane w ramach projektów finansowanych przez Narodowe Centrum Nauki (NCN CEUS-Unisono 2020/02/Y/NZ4/00051) oraz Fundację na Rzecz Nauki Polskiej (TEAM POIR.04.04.00-00-1ACA/16-00).

Tematyka badawcza rozprawy doktorskiej

Rozprawa stanowi obszerną i bardzo ambitną pracę eksperymentalną, której zasadniczym celem było zbadanie neuronalnych podstaw przetwarzania wskazówek wizualnych o różnej złożoności oraz plastyczności reprezentacji kory retrosplenialnej (RSC) podczas zmiany strategii nawigacyjnej. Zagadnienie to ma fundamentalne znaczenie dla

zrozumienia funkcjonowania układu orientacji przestrzennej, integracji percepcyjno-poznawczej oraz organizacji reprezentacji neuronów pamięciowych w mózgu ssaków.

RSC jest strukturą połączoną siecią neuronalną z hipokampem, korą wzrokową i wzgórzem, a jej funkcja od wielu lat pozostaje przedmiotem intensywnych badań neurobiologicznych. W szczególności przypisuje się jej udział w integracji wskazówek egocentrycznych i allocentrycznych, transformacjach perspektywy, stabilizacji reprezentacji przestrzeni oraz w koordynacji interakcji pomiędzy hipokampem a korą nową.

W tym kontekście głównym celem rozprawy było zbadanie, w jaki sposób RSC przetwarza informacje dotyczące wskazówek wizualnych o różnym stopniu złożoności oraz czy i w jaki sposób zmiana strategii nawigacyjnej prowadzi do reorganizacji populacji neuronalnych w tej strukturze.

Podstawa pracy doktorskiej

Praca posiada układ charakterystyczny dla rozprawy doktorskiej, liczy 131 stron i została podzielona na wyraźnie wyodrębnione części, tj. spis treści, streszczenie w języku polskim, streszczenie w języku angielskim, wykaz skrótów, wstęp, metodykę, wyniki, dyskusję, wnioski, bibliografię. W pracy brakuje spisu rycin i tabel.

Układ rozprawy jest przejrzysty, poprawny i sprzyja zrozumieniu prezentowanego materiału. Kolejne części są logicznie powiązane i tworzą spójną narrację badawczą, od teorii, przez metody, po wyniki i interpretację. Konstrukcja pracy odpowiada aktualnym standardom redakcyjnym i merytorycznym dla prac doktorskich w dziedzinie neurobiologii.

Ocena merytoryczna rozprawy doktorskiej

Rozprawa cechuje się wysokim poziomem merytorycznym. Praca rozpoczyna się krótkim **wprowadzeniem** podkreślającym istotność podejmowanej tematyki badawczej w świetle, aktualnego stanu wiedzy na temat pamięci przestrzennej, neuronalnych mechanizmów kodowania informacji przestrzennej oraz roli RSC w integracji wskazówek wzrokowych. Przegląd literatury jest logicznie uporządkowany i wprowadza czytelnika w złożony kontekst badawczy, stanowiąc solidne tło teoretyczne dla dalszych części pracy. Część teoretyczna świadczy o gruntownej znajomości literatury dotyczącej tematu. Doktorantka umiejętnie przedstawia kontekst teoretyczny swojej pracy i próbuje dokonać weryfikacji postawionej **hipotezy badawczej**, czyli sprawdzenia czy w ramach procesów nawigacji RSC stanowi stabilną reprezentację neuronalną kontekstu przestrzennego lub kategorii bodźca, na podstawie którego został on zidentyfikowany.

W kontekście oceny procesów pamięciowych Doktorantka opisała narzędzia behawioralne, jakie są wykorzystywane do oceny tych zachowań, czyli labirynty. Jakie są inne paradygmaty do oceny tych zachowań i czy mogłyby zostać zastosowane do oceny aktywności RSC? Podobnie, w przypadku opisu genów wczesnej odpowiedzi na pamięć, wymieniony został zif268 i szczegółowo scharakteryzowany c-FOS. Czy Doktorantka posiada wiedzę na temat innych genów wczesnej odpowiedzi?

Następnie przedstawiona jest **szczegółowa część metodologiczna**. W celu weryfikacji hipotez badawczych Doktorantka wykorzystała: zautomatyzowane zadania behawioralne w labiryncie T, obrazowanie dwufotonowe aktywności pojedynczych neuronów *in vivo* oraz mapowanie aktywności całego mózgu z wykorzystaniem immunodetekcji c-Fos i techniki iDISCO+. Metody opisane są bardzo szczegółowo, umożliwiają potencjalną replikację badań i świadczą o wysokiej znajomości stosowanych technik. Zastosowanie tak szerokiego spektrum metod świadczy o dużej dojrzałości badawczej i umiejętności integrowania różnorodnych narzędzi w celu rozwiązania jednego, wieloaspektowego problemu naukowego.

Najobszerniejszą część pracy stanowi **opis uzyskanych wyników**. Zgodnie z oczekiwaniami wynikającymi z analizy literatury, Doktorantka zakładała, że RSC może pełnić złożone i subtelne funkcje w przetwarzaniu informacji przestrzennej. Mgr Włodkowska konsekwentnie analizowała retencję, rekrutację i zmiany intensywności sygnału pojedynczych neuronów RSC w kolejnych sesjach testowych, jednak w eksperymentach nie uzyskała istotnych statystycznie różnic pomiędzy badanymi parametrami. Wyniki wskazały przede wszystkim na wpływ czasu pomiędzy sesjami na stabilność populacji neuronalnej oraz na brak jednoznacznej zmiany strategii nawigacyjnej. Eksperymenty 1 i 2 wykonywane były na samcach i samicach szczepu B6.Cg-Tg(Fos/EGFP)1-3Brth/J. Proszę o doprecyzowanie ile wynosiło kryterium stop, w pracy podane są rozbieżne wartości. Mimo deklarowanego braku istotnych różnic płci, dalsza analiza obejmuje wyłącznie samce, co i powinno zostać lepiej uzasadnione. W eksperymencie, dotyczącym różnych typów wskazówek wizualnych, również nie zaobserwowano wyraźnych różnic w aktywności RSC. Jedynym istotniejszym sygnałem był wzrost aktywacji c-Fos w korze okołowęchowej (PRC) podczas stosowania bardziej wskazówek typu landmark, co stanowi interesujące uzupełnienie dotychczasowej wiedzy o funkcjonalnej hierarchii przetwarzania wzrokowego. Wynik ten został poprawnie zinterpretowany jako zgodny z rolą PRC w rozpoznawaniu złożonych obiektów i nowości.

Pomimo braku istotnych efektów statystycznych, praca wnosi wartościowy element nowości, pokazując w sposób systematyczny, że RSC nie różnicuje subtelnych wskazówek

wizualnych ani zmian strategii w stopniu przewidywanym przez niektóre modele teoretyczne. Zastosowanie rzadko wykorzystywanego w tej strukturze obrazowania dwufotonowego, połączonego z analizą populacyjną i obrazowaniem całego mózgu, dostarcza nowych danych dotyczących wysokiej zmienności i niespecyficzności reprezentacji w RSC. Praca stanowi tym samym istotny wkład metodologiczny i koncepcyjny, uzupełniając aktualną literaturę o negatywne, lecz naukowo wartościowe wyniki dotyczące funkcjonalnej roli RSC.

Niestety większość rycin, znajdujących się w tym rozdziale jest trudna do jednoznacznej interpretacji z powodu nieprecyzyjnych lub niepełnych opisów, np.:

- W Ryc. 7 brakuje opisów zdjęć C i D;
- w Ryc. 8 pojawia się powtórzony opis zdjęcia C;
- opis Ryc. 10, 19 jest niewystarczający: nie wyjaśniono, co oznacza przedstawiona na osi pionowej „proporcja prawidłowych wyborów”, a w panelu B nie doprecyzowano do jakich porównań statystycznych się odnoszą oznaczone istotności statystyczne. Uzupełnienie tych opisów byłoby konieczne dla pełnej czytelności prezentowanych wyników.

Podczas analizy sekcji wyniki nasunęły się następujące pytania:

- Skoro literatura sugeruje, że RSC przetwarza raczej „globalne właściwości środowiska” niż subtelne różnice wskazówek, jak Doktorantka uzasadnia wybór tak niewielkich manipulacji wizualnych?
- Czy obecny eksperyment pozwala odróżnić „brak efektu” od „braku czułości metody”, zwłaszcza w przypadku RSC?
- Czy Doktorantka przewiduje, że oddzielna analiza neuronów w RSCg (obszar granularny) i RSCa (obszar agranularny) mogłaby ujawnić różnice, które nie zostały wykryte przy analizie uśrednionej populacji?

Wyniki są **dyskutowane** w kontekście dostępnej literatury. Ta część pracy napisana jest z dużą starannością i świadczy o znajomości tematyki oraz zdolności krytycznego myślenia. Doktorantka umiejętnie zestawia wyniki z literaturą, podkreślając zarówno zgodność, jak i rozbieżności. Dyskusja jest jednak w kilku miejscach nadmiernie rozbudowana względem uzyskanych wyników, a część interpretacji ma charakter spekulatywny i wymagałaby skrócenia lub uproszczenia. Dodatkowo, warto zaznaczyć, że bibliografia jest bardzo bogata i obejmuje 197 pozycji. Doktorantka jest współautorką 4 publikacji, przy czym w 2 jest współautorem z równym wkładem jako pierwszy autor.

Styl rozprawy doktorskiej

Tak jak wcześniej wspomniano praca napisana jest językiem naukowym. Jednak Doktorantka nie uniknęła błędów edytorskich. Przykładowe, drobne uchybienia to:

- Na stronie 17 termin *parasubiculum* występuje bez objaśnienia,
- skrót *fMRI* -brak rozwinięcia skrótu;
- pierwszy raz zastosowane skróty powinny być konsekwentnie stosowane w całej pracy *RSC*, *HD*, *FP*, *RSCg*;
- skróty, takie jak *MECS*, *AP-1*, *MMP-9* czy *TIMP-1*, nie pojawiają się w wykazie skrótów;
- Warto również doprecyzować zdanie ze strony 35: „uprościło układu zwiększyło bezpieczeństwo”.

Uzupełnienie tych szczegółów poprawiłoby przejrzystość i spójność stylistyczną pracy.

Podsumowując, recenzowana przeze mnie rozprawa doktorska stanowi oryginalne podejście do problemu badawczego z użyciem nowoczesnych technik badawczych i wymagające ogromnego nakładu pracy Doktorantki. Doktorantka wykazała szeroką wiedzę teoretyczną w zakresie obejmującym rozprawę doktorską i umiejętności samodzielnego prowadzenia badań naukowych. Chociaż czytając pracę odnosi się wrażenie, że brakuje finalnego szlifowania edytorskiego, rozprawa doktorska mgr Urszuli Włodkowskiej jest wartościowym dziełem naukowym. Stanowi oryginalne rozwiązanie postawionego problemu badawczego i wypełnia cele określone dla rozpraw doktorskich. Mimo że wyniki nie potwierdziły początkowych hipotez, praca przynosi ważny wkład do zrozumienia funkcji RSC i jej roli w przetwarzaniu informacji przestrzennej. W mojej ocenie rozprawa doktorska mgr Urszuli Włodkowskiej spełnia warunki określone w art. 187 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. 2024 poz. 1571 z późn. zm.). W związku z powyższym, wnioskuję do Rady Naukowej Instytutu Biologii Doświadczalnej o dopuszczenie mgr Urszuli Włodkowskiej do dalszych etapów postępowania w sprawie nadania stopnia doktora.

Barbara Budzyńska

Łódź, dnia 12.12.2025 r.

Dr hab. Tomasz Kowalczyk, prof. UŁ
Katedra Neurobiologii
Wydział Biologii i Ochrony Środowiska
Uniwersytet Łódzki

Recenzja rozprawy doktorskiej Pani mgr Urszuli Włodkowskiej zatytułowanej

Wewnątrzsobnicze różnice w reprezentacji neuronalnej

wizualnych wskazówek przestrzennych w korze retrosplenialnej

przygotowanej pod kierunkiem dr hab. Rafała Czajkowskiego, prof. IBD

w Pracowni Pamięci Przestrzennej

Instytutu Biologii Doświadczalnej im. Marcelego Nenckiego

Polskiej Akademii Nauk w Warszawie

W przedstawionej do recenzji rozprawie doktorskiej Pani mgr Urszula Włodkowska podjęła próbę scharakteryzowania populacji neuronalnych kory retrosplenialnej (RSC) na różnych etapach tworzenia śladów pamięciowych powstających w oparciu o zmienne wizualne wskazówki przestrzenne prezentowane podczas treningu behawioralnego. RSC, dzięki ścisłym połączeniom z formacją hipokampalną, korą wzrokową oraz obszarem wzgórza, może odgrywać istotną rolę w procesach pamięciowych związanych z nawigacją przestrzenną. Obwody neuronalne RSC, przetwarzające bodźce wzrokowe niezbędne do nawigowania, mogą stanowić istotny element ośrodkowego układu struktur związanych z powstawaniem, przechowywaniem i późniejszym odtwarzaniem engramów pamięci przestrzennej. Pomimo potencjalnego zaangażowania kory retrosplenialnej w wymienione procesy pamięciowe, udział różnych subpopulacji neuronalnych RSC w tworzeniu i odzyskiwaniu przestrzennych śladów pamięciowych nie jest wystarczająco dobrze poznany i udokumentowany, stąd tematyka badań podjętych przez Doktorantkę ma głębokie uzasadnienie merytoryczne i może przyczynić się do lepszego poznania zagadnień związanych pamięcią i orientacją przestrzenną.

1/ Ogólna ocena formalna

Praca doktorska przedstawiona do oceny posiada typowy układ monografii napisanej w języku polskim. Język manuskryptu oceniam jako bardzo dobry, wypowiedź jest prowadzona przez Doktorantkę w sposób jasny, bez zbędnych powtórzeń i wyraźnych błędów. Wstęp pracy jest rzeczowy i w logiczny sposób prowadzi do przedstawienia zasadniczego celu badawczego. Rozdział metodyczny jest klarowny, opis zastosowanych technik i analiz nie budzi większych zastrzeżeń. Wyniki uzyskane podczas przeprowadzonych badań przedstawione zostały w sposób prawidłowy a ich krytyczna dyskusja w świetle najnowszej literatury tematu przeprowadzona została w sposób kompetentny i rzeczowy. O szerokiej wiedzy i dobrym przygotowaniu merytorycznym Pani mgr Urszuli Włodkowskiej świadczy liczba 197 pozycji, trafnie wyselekcjonowanego i aktualnego piśmiennictwa naukowego. Szata graficzna pracy stoi na dobrym poziomie. Zamieszczone w odpowiednich miejscach manuskryptu ryciny są czytelne i w odpowiedni sposób ilustrują otrzymane przez Doktorantkę wyniki. Rozprawa poprzedzona jest spisem treści, streszczeniem w języku polskim i angielskim, wykazem używanych przez Autorkę skrótów, a zakończona spisem literatury oraz zestawieniem publikacji oryginalnych Doktorantki. Struktura manuskryptu jest czytelna, a podział na poszczególne części prawidłowy i logiczny. Autorka nie ustrzegła się drobnych błędów językowych, literowych i interpunkcyjnych, jednakże są one rzadkie i nie wpływają na jednoznacznie pozytywną ocenę formalno-techniczną rozprawy. Podsumowując, pod względem formalnym recenzowany manuskrypt spełnia wszelkie wymogi stawiane rozprawom doktorskim.

2/ Ocena merytoryczna rozprawy

Wprowadzenie teoretyczne do badań prowadzonych przez Doktorantkę zaprezentowane zostało w liczącym 17 stron wstępie. Ta część manuskryptu, podobnie jak pozostałe jego rozdziały, została dobrze przemyślana, a przedstawione w niej informacje oparte są na najnowszych danych literaturowych. Wstęp rozprawy bardzo dobrze prowadzi czytelnika do przedstawionego celu badawczego. W pierwszej części tego rozdziału pracy Pani mgr. Włodkowska zamieszcza podstawowe informacje dotyczące nawigacji i pamięci przestrzennej i szczegółowo charakteryzuje obwody neuronalne i rodzaje neuronów zaangażowanych w kodowanie pamięci przestrzennej. W kolejnej części wstępu doktorantka przedstawia aktualny stan wiedzy dotyczącej roli kory retrosplenialnej w procesach pamięci

przestrzennej. Następne fragmenty rozdziału wprowadzającego Doktorantka poświęca szczegółowej charakterystyce technik behawioralnych wykorzystywanych w badaniach procesów pamięciowych. Wstęp rozprawy zakończony został podrozdziałem opisującym metody monitorowania poziomu genów wczesnej odpowiedzi komórki w badaniach procesów związanych z tworzeniem śladów pamięciowych. Informacje zawarte we wstępie do rozprawy doktorskiej zostały przedstawione w sposób przejrzysty, kolejne podrozdziały stanowią swoje logiczne następstwo, a całość dobrze wprowadza czytelnika w tematykę prowadzonych przez Panią mgr. Włodkowską badań.

Ogólnym celem badań badawczym sformułowany przez Doktorantkę było określenie, czy na poziomie RSC tworzona jest, w czasie ekspozycji na zmienne bodźce wzrokowe prezentowane podczas treningu behawioralnego, neuronalna reprezentacja kontekstu przestrzennego lub kategorii prezentowanych bodźców. W uzupełnieniu ogólnego kierunku pracy, Pani mgr. Włodkowska sformułowała sześć celów szczegółowych: 1/ opracowanie wspólnego schematu analizy obrazów uzyskanych z mikroskopii dwufotonowej; 2/ weryfikacja obecności różnic wewnątrzsobniczych w populacjach neuronalnych RSC kodujących konteksty odmiennych strategii nawigacji przestrzennej; 3/ określenie zmienności populacji neuronalnych RSC podczas tworzenia i odtwarzania przestrzennych śladów pamięciowych; 4/ określenie zmienności poziomu aktywacji neuronów RSC na bodźce o różnym poziomie złożoności; 5/ charakterystyka różnic w postrzeganiu wskazówek wzrokowych w całym mózgu; 6/ identyfikacja określonych struktur mózgu aktywnych podczas prowadzonych treningów behawioralnych. Postawione przez Doktorantkę cele pracy mają głębokie uzasadnienie merytoryczne, a ich realizacja może doprowadzić do znaczącego poszerzenia wiedzy o systemach neuronalnych kory retrosplenialnej i innych struktur mózgu zaangażowanych w tworzenie śladów pamięci przestrzennej na różnych etapach czasowych i w odpowiedzi na zmienne bodźce.

Materiałem biologicznym wykorzystywanym przez Doktorantkę w badaniach były samce i samice (z wyraźną przewagą samców) dwóch szczepów myszy: dzikiego i transgenicznego z transgenem kodującym białko fuzyjne FosGFP. Eksperymenty przeprowadzono zgodnie z obowiązującymi przepisami i za zgodą odpowiedniej Lokalnej Komisji ds. Doświadczeń na zwierzętach. W kolejnych podrozdziałach części metodycznej manuskryptu Pani mgr Włodkowska przedstawiła stosowane w prowadzonych badaniach

techniki i procedury eksperymentalne, zaczynając od opisu operacji stereotaktycznych, przez szczegółową charakterystykę prowadzonych testów behawioralnych, obrazowanie aktywności neuronalnej z wykorzystaniem mikroskopii dwufotonowej, aż po oznaczanie i analizę rozmieszczenia białka c-Fos w półkulach mózgów. Rozdział metodyczny wzbogacony został przez Doktorantkę o ryciny ilustrujące charakterystykę stosowanych w eksperymentach behawioralnych wskazówek wizualnych, schematy poszczególnych eksperymentów, etapy przetwarzania obrazów uzyskanych w mikroskopii dwufotonowej i znakowaniu białka c-Fos, przedstawiono również tabele ilustrujące wykaz używanych leków, odczynników chemicznych i przeciwciał. Na szczególną uwagę zasługuje szeroki wachlarz metod eksperymentalnych oraz technik analitycznych i statystycznych opanowanych i z powodzeniem wykorzystywanych przez Doktorantkę w swojej pracy. Opis metodyki prowadzonych przez mgr Włodkowską badań, ich weryfikacji oraz analiz statystycznej otrzymanych wyników nie budzi zastrzeżeń. Moja ocena części metodycznej rozprawy jest pozytywna, a na szczególną uwagę zasługuje fakt znakomitego przygotowania Doktorantki do prowadzenia nowoczesnych badań behawioralnych i obrazowych.

Wyniki uzyskane przez Doktorantkę opisane zostały w szczegółowy sposób, dodatkowo zilustrowano je siedemnastoma rycinami i czterema tabelami. Autorka badała aktywność neuronalną kory retrosplenialnej myszy poddawanych testom behawioralnym przy zamiennej strategii nawigacji i zmiennej dostępności wskazówek nawigacyjnych. W obrębie badanej struktury Doktorantka wyróżniła, na podstawie zaobserwowanych różnic we fluorescencji pomiędzy sesjami, dwie subpopulacje neuronalne, które określiła mianem „stabilnych” i „plastycznych”. Aktywność tych subpopulacji może być związana według Autorki z różnymi etapami tworzenia śladów pamięci przestrzennej. Przeprowadzone analizy nie wykazały wyraźnych różnic w otrzymywanych wynikach ze względu na płeć zwierzęcia. W cyklu eksperymentów z immunofluorescencyjnym znakowaniem komórek c-Fos-pozytywnych doktorantka nie zaobserwowała na poziomie całego mózgu istotnych różnic aktywacji ze względu na odmienną prezentowanych podczas treningu wskazówek. Dodatkowe badania na poziomie konkretnych struktur pozwoliły wykazać korelację pomiędzy długością treningu a aktywacją kilku rejonów mózgu w tym kory okołowęchowej, kory ektorynalnej czy bocznego obszaru podwzgórza. Przedstawione przez Doktorantkę wyniki wskazują na realizację przyjętego wcześniej celu badawczego, mają nowatorski charakter i poszerzają aktualny stan

wiedzy dotyczący obwodów neuronalnych zaangażowanych w powstawanie i odtwarzanie engramów pamięci przestrzennej.

Wyniki prac eksperymentalnych zostały szczegółowo i krytycznie omówione w rozdziale dyskusyjnym, w którym Pani mgr Włodkowska zestawiała je z najnowszymi danymi literaturowymi. Na szczególną uwagę zasługują fragmenty dyskusji, w których Autorka omawia wyniki nie w pełni jednoznaczne oraz sama dostrzega ograniczenia zastosowanych w badaniach układów doświadczalnych, wskazując jednocześnie na możliwe rozwiązania problemów, na które się natknęła. Taki sposób prowadzenia dyskusji wskazuje na dobre przygotowanie merytoryczne i dużą dojrzałość naukową Doktorantki ukazując jednocześnie zdolność do prowadzenia samodzielnych badań na wysokim poziomie.

3/ Uwagi i komentarze

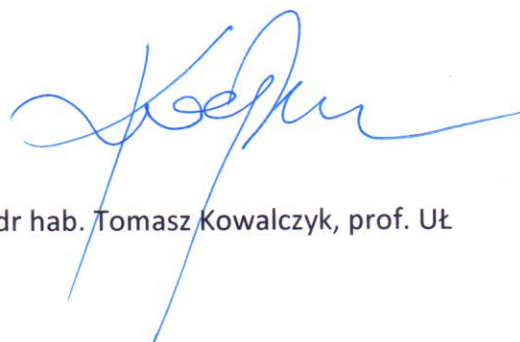
Recenzowaną rozprawę doktorską oceniam jednoznacznie pozytywnie, pragnę jednak w tym miejscu podzielić się z Doktorantką pewnymi uwagami i pytaniami, które nasunęły mi się podczas czytania pracy:

- 1/ Str. 16, opis hipokampalnych komórek miejsca – sądzę, iż poprawniej jest mówić o zmianie częstotliwości wyładowań komórkowych a nie natężeniu wyładowań.
- 2/ Str. 48, Ryc. 7, w podpisie zabrakło opisu części C i D prezentowanej ryciny.
- 3/ Str. 52, Ryc. 8, w podpisie znajduje się dwukrotny opis części C ryciny.
- 4/ Cele pracy – Doktorantka przedstawiła 6 celów szczegółowych prowadzonych przez siebie badań, niestety ani przy opisie wyników, ani w rozdziale dyskusyjnym czy podsumowaniu, nie odniosła się do nich bezpośrednio. Uważam, iż przedstawienie, nawet krótkie, w jakim stopniu udało się Autorce zrealizować poszczególne cele szczegółowe (skoro zostały one sformułowane) winno znaleźć się w pracy.
- 5/ Badanie zmienności uzyskanych wyników w zależności od płci – chciałbym zapytać dlaczego od początku istniała znacząca nierówność w liczebności grup, która pogłębiona w trakcie eksperymentów uniemożliwiła jednoznaczne wnioskowanie o ewentualnych różnicach lub braku takowych.
- 6/ W wielu miejscach wyników opisywany jest brak różnic otrzymywanych podczas prowadzonych analiz, lub widoczne tendencje przy braku istotności statystycznej – czy Doktorantka ma jakieś pomysły na dalsze badania, tak aby wzmocnić siłę/widoczność obserwowanych efektów.

- 7/ W wielu miejscach rozdziału opisującego wyniki przedstawiona została metodyka uzyskiwania ostatecznego wyniku a nie same wyniki – to moim zdaniem może utrudniać odbiór pracy

5/ Podsumowanie

W podsumowaniu chciałbym podkreślić, że praca doktorska Pani mgr Urszuli Włodkowskiej stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego. Treść rozprawy świadczy, że Doktorantka jest dobrze przygotowana zarówno pod względem merytorycznym jak i praktycznym, do prowadzenia samodzielnej pracy naukowej. Dysertacja stanowi przemyślaną koncepcyjnie, dobrze wykonaną pod względem użytych technik i analiz oraz prawidłowo opisaną i przedyskutowaną całość. Uzyskane przez Doktorantkę wyniki są nowatorskie i istotne dla zrozumienia procesów zachodzących w obwodach neuronalnych ośrodkowego układu nerwowego biorących udział w tworzeniu, magazynowaniu i odtwarzaniu engramów pamięci przestrzennej. Przedstawione w tekście recenzji uwagi nie mają wpływu na moją pozytywną ocenę rozprawy, należy zatem uznać, że przedstawiona do recenzji praca zatytułowana „*Wewnątrzsobnicze różnice w reprezentacji neuronalnej wizualnych wskazówek przestrzennych w korze retrosplenialnej*” spełnia wszelkie wymagania stawiane rozprawom doktorskim. Konkludując, stwierdzam, że recenzowana rozprawa doktorska Pani mgr Urszuli Włodkowskiej spełnia warunki określone w artykule 187 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2023 r. poz. 742 z późn. zm.). W związku z powyższym wnioskuję do Rady Naukowej Instytutu Biologii Doświadczalnej im. Marcelego Nenckiego Polskiej Akademii Nauk w Warszawie o dopuszczenie mgr Urszuli Włodkowskiej do dalszych etapów postępowania w sprawie nadania stopnia doktora.



dr hab. Tomasz Kowalczyk, prof. UŁ