

Autoreferat

1. Imię i nazwisko: Mieszko Olczak

2. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe:

- 2008 r. - dyplom lekarza, I Wydział Lekarski, Warszawski Uniwersytet Medyczny, Warszawa
- 2011 r. - tytuł doktora nauk medycznych, Instytut Psychiatrii i Neurologii w Warszawie, Warszawa, tytuł rozprawy doktorskiej: „Ocena neurorozwojowej toksyczności Thimerosalu w zwierzęcym modelu - analiza behawioralna i neuropatologiczna, w kontekście zaburzeń spektrum autyzmu”.
- 2015 r. - tytuł specjalisty medycyny sądowej - Centrum Egzaminów Medycznych w Łodzi

3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych:

- 2007 - 2009: Katedra Marii Curie K.E. przy Zakładzie Farmakologii i Fizjologii Układu Nerwowego, Instytut Psychiatrii i Neurologii w Warszawie – wykonawca grantu (MEXC-CT-2006-042371),
- 2009 - 2010: Akademia Pedagogiki Specjalnej im. Marii Grzegorzewskiej w Warszawie – wykładowca,
- 2009 - 2019: Zakład Medycyny Sądowej, Warszawski Uniwersytet Medyczny – asystent,
- 2019 do chwili obecnej: Zakład Medycyny Sądowej, Warszawski Uniwersytet Medyczny – adiunkt.

4. Wskazanie osiągnięcia wynikającego z art. 16 ust. 2 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. 2017 r. poz. 1789)

a) tytuł osiągnięcia naukowego: cykl 5 publikacji zatytułowany: "Biochemiczne i neuropatologiczne markery zmian urazowych oraz ostrego niedokrwienia i niedotlenienia ośrodkowego układu nerwowego w badaniach pośmiertnych"

b) publikacje stanowiące cykl naukowy:

1: Olczak M, Niderla-Bielińska J, Kwiatkowska M, Samojłowicz D, Tarka S, Wierzba-Bobrowicz T. Tau protein (MAPT) as a possible biochemical marker of traumatic brain injury in postmortem examination. Forensic Sci Int. 2017; 280: 1-7.

2: Olczak M, Chutorański D, Kwiatkowska M, Samojłowicz D, Tarka S, Wierzba-Bobrowicz T. Bystin (BYSL) as a possible marker of severe hypoxic-ischemic changes in neuropathological examination of forensic cases. *Forensic Sci Med Pathol*. 2018;14: 26-30.

3: Olczak M, Kwiatkowska M, Niderla-Bielińska J, Chutorański D, Tarka S, Wierzba-Bobrowicz T. Brain-originated peptides as possible biochemical markers of traumatic brain injury in cerebrospinal fluid post-mortem examination. *Folia Neuropathol*. 2018; 56: 97-103.

4: Olczak M, Poniatowski Ł, Kwiatkowska M, Samojłowicz D, Tarka S, Wierzba-Bobrowicz T. Immunolocalization of dynein, dynactin, and kinesin in the cerebral tissue as a possible supplemental diagnostic tool for traumatic brain injury in postmortem examination. *Folia Neuropathologica*. 2019; 57: 51-62.

5: Olczak M, Poniatowski Ł, Niderla-Bielińska J, Kwiatkowska M, Chutorański D, Tarka S, Wierzba-Bobrowicz T. Concentration of microtubule associated protein tau (MAPT) in urine, and saliva as a potential biomarker of traumatic brain injury in relationship with blood-brain barrier disruption in postmortem examination. *Forensic Sci Int*. 2019; (in press).

c) omówienie celu naukowego/artystycznego ww. pracy/prac i osiągniętych wyników wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania:

W diagnostyce pośmiertnej często spotykamy się z przypadkami zmian urazowych oraz zmian niedokrwiennych i niedotlenieniowych ośrodkowego układu nerwowego. Współczesna - klasyczna diagnostyka pośmiertna daje ograniczone możliwości wykrycia powyższych zmian zwłaszcza w przypadkach kiedy okres pomiędzy ich wystąpieniem a zgonem jest krótki. W wielu przypadkach pomimo obecnych makroskopowych wykładników urazów głowy w obrębie powłok głowy nie udaje się wykazać makroskopowo zmian urazowych w obrębie mózgowia. Bazując jedynie na barwieniach podstawowych (hematoksyliną i eozyną) oraz immunohistochemicznych (barwienie przeciw prekursorowi beta-amyloidu) posiadamy ograniczone możliwości wykrycia zmian urazowych w obrębie mózgowia, a możliwość ich wykrycia przy pomocy ww. badań, w szczególności immunohistochemicznych ograniczona jest do przypadków, w których czas przeżycia od momentu urazu wynosi przynajmniej 30 minut lub więcej (rzędu godzin). Podobnie jak w przypadku zmian urazowych diagnostyka ostrych zmian niedokrwiennie-niedotlenieniowych w przypadkach kiedy zgon występuje bezpośrednio po takim epizodzie, jest bardzo ograniczona - w badaniu mikroskopowym ośrodkowego układu nerwowego (barwienia hematoksyliną i eozyną) nie jest możliwa identyfikacja takiego epizodu, gdyż obserwowane zmiany nie są dla niego swoiste, zwłaszcza jeśli do zgonu dochodzi bezpośrednio po takim epizodzie.

Powyższe trudności diagnostyczne były inspiracją do przeprowadzenia cyklu eksperymentów naukowych, które mogłyby zidentyfikować nowe, biochemiczne i neuropatologiczne markery zmian urazowych oraz ostrego niedokrwienia i niedotlenienia ośrodkowego układu nerwowego mające zastosowanie w badaniach pośmiertnych.

Wyjściem do zaproponowanych badań naukowych były prace badawcze prowadzone na modelach komórkowych (badania *in vitro*) i zwierzęcych, neuropatofizjologiczne

mechanizmy występujące po doznanych urazach głowy oraz doniesienia odnośnie potencjalnych markerów doznanych urazów głowy u osób, które przeżyły uraz głowy.

Zwiększony poziom neuropeptydów (pochodzących z ośrodkowego układu nerwowego) w płynach ustrojowych obserwowany był u zwierząt eksperymentalnych, które doznały urazu głowy oraz u sportowców (bokserów), którzy w związku z powtarzalnymi urazami głowy również wykazywali ich zwiększony poziom w różnych płynach ustrojowych. Jednocześnie doznane urazy głowy prowadzą do zaburzeń transportu aksonalnego w obrębie ośrodkowego układu nerwowego. W przypadkach ostrego niedokrwienia i niedotlenienia ośrodkowego układu nerwowego prace prowadzone na hodowlach komórek nerwowych, które narażone były na niedotlenienie w warunkach *in vitro* oraz w modelach zwierzęcych ostrego niedokrwienia-niedotlenienia ośrodkowego układu nerwowego, wykazały zwiększoną ekspresję konkretnego białka cytoplazmatycznego – bystyny w komórkach nerwowych.

Jako potencjalne markery doznanego urazu głowy wytypowano białka strukturalne i funkcjonalne pochodzące z ośrodkowego układu nerwowego. Z powyższych białek wytypowano: białko Tau (występujące m.in. w dendrytach), białko łańcuchów lekkich neurofilamentów (występujące w aksonach), białko podstawowe mieliny (występujące w aksonach), białko kwaśne włókienkowe astrocytów (występujące w astrocytach) oraz białka cytoszkieletu komórek nerwowych uczestniczące w transporcie aksolnalnym: dynaktynę, dyneinę i kinezynę.

W prowadzonych badaniach odnośnie markerów urazów głowy wyodrębniono trzy grupy eksperymentalne, w których wykluczono zmiany neurodegeneracyjne i chorobowe ośrodkowego układu nerwowego: grupę kontrolną (przypadki nagłych zgonów sercowych niepoprzedzonych reanimacją), grupę z doznaniem urazu głowy, który nie był bezpośrednią przyczyną zgonu (w tej grupie zgon bezpośrednio po doznaniu urazu głowy wynikał z doznanych obrażeń tułowia i kończyn oraz nie był poprzedzony reanimacją) oraz grupę, w której uraz głowy był bezpośrednią przyczyną zgonu (również niepoprzedzonego reanimacją, który wystąpił bezpośrednio po doznaniu urazu głowy).

Dla powyższych grup przeprowadzono analizę stężenia wybranych neuropeptydów metodą ELISA w płynach ustrojowych - płynie mózgowo-rdzeniowym, surowicy krwi, moczu oraz ślinie. Jednocześnie wykonano barwienia immunohistochemiczne przeciw ww. białkom w wycinkach mózgowia pobranych podczas sekcji zwłok. Otrzymane wyniki potwierdziły, iż po doznaniu urazu głowy obserwuje się statystycznie istotne zwiększenie stężenia typowanych biomarkerów doznanego urazu głowy: białka tau w płynie mózgowo-rdzeniowym, surowicy krwi, moczu oraz ślinie oraz białka podstawowego mieliny, białka łańcuchów lekkich neurofilamentów i białka kwaśnego włókienkowego astrocytów w płynie mózgowo-rdzeniowym.

Jednocześnie badania immunohistochemiczne wykazały szereg zmian w reakcji przeciw wybranym neuropeptydom w grupach po doznaniu urazu głowy. Dla białka Tau obserwowano zwiększenie reakcji immunohistochemicznej w okolicach drobnych ognisk krwotocznych i uszkodzeń wyściółki komór bocznych mózgu oraz obecność licznych komórek

ze zwiększoną ekspresją białka Tau wokół naczyń mózgowych (najprawdopodobniej makrofagów/fagocytyującego mikrogleju). Dla białka łańcuchów lekkich neurofilamentów obserwowano rozсіяną nieciągłą reakcję w obrębie aksonów wskazującą najprawdopodobniej na rozerwania aksonów. Dla białka podstawowego mieliny obserwowano rozсіяną i zmniejszoną reakcję przeciwko temu białku związaną najprawdopodobniej z wtórnymi procesami zachodzącymi po doznanym urazie głowy takimi jak: wzrost stężenia jonów wapnia wewnątrz komórek nerwowych związany z toksycznym działaniem glutaminianu, zaburzeń polaryzacji neuronów, zaburzeń funkcji mitochondriów i stresu oksydacyjnego. Dla białka kwaśnego włókienkowego astrocytów obserwowano rozсіяną kłazmatodendrozę wypustek astrocytów, uszkodzenie stopek astrocytów wokół naczyń krwionośnych (stanowiących elementy strukturalne bariery krew-mózg) oraz uszkodzenia astrocytów w obrębie wyściółki komór bocznych (stanowiących elementy strukturalne bariery mózg-płyn mózgowo-rdzeniowy). Dla białek uczestniczących aktywnie w transporcie aksolnalnym również wykazano szereg zmian w barwieniach immunohistochemicznych. Dla dyneiny po doznanych urazach głowy obserwowano wyraźne zmniejszenie i homogenizację reakcji w obrębie cytoplazmy i aksonów neuronów kory nerwowej. Dla dynaktyny po doznanych urazach głowy wyraźne zmniejszenie i homogenizację reakcji w obrębie cytoplazmy, brak reakcji w aksonach neuronów kory nerwowej oraz dodatnią reakcję w postaci grudek zlokalizowanych poza komórkami nerwowymi - w neuropilu. W spoidle wielkim mózgu obserwowano natomiast widoczną jedynie odcinkowo dodatnią reakcję przeciw dynaktynie, reakcje w postaci grudek widoczna poza aksonami oraz dodatnią reakcję najprawdopodobniej w komórkach glejowych, co może wskazywać na uszkodzenia aksonów w obrębie spoidła wielkiego mózgu. Dla kinezyny obserwowano w korze mózgowej liczne komórki wokół naczyń krwionośnych oraz w świetle naczyń krwionośnych (najprawdopodobniej makrofagi/fagocytyujący mikroglej) z dodatnią ekspresją kinezyny w obrębie ich cytoplazmy – wskazującą na aktywną fazę uprzątnięcia w obrębie mózgowia. W spoidle wielkim mózgu obserwowano zaś zwiększoną, widoczną odcinkowo reakcję, w obrębie aksonów oraz zmniejszoną reakcję najprawdopodobniej w komórkach oligodendrogleju. Stwierdzone ilościowe i jakościowe zmiany w reakcjach przeciw wybranym białkom aktywnie uczestniczącym w transporcie aksolnalnym z dużym prawdopodobieństwem wskazują na wynikające bezpośrednio z urazu głowy zaburzenia transportu aksolnalnego. Wartym zaznaczenia jest, iż stwierdzone ilościowe i jakościowe zmiany w barwieniach immunohistochemicznych występowały pomimo, iż w barwieniu przeciw prekursorowi beta amyloidu (uważanego dotychczas za wczesny marker doznanego urazu głowy - z możliwością wykrycia skutków urazu już po czasie rzędu 30 minut po doznanym urazie głowy) nie wykazano różnic pomiędzy grupą kontrolną, a grupami badanymi (gdzie doszło do urazu głowy oraz zgonu).

Poszukując mechanizmów przenikania wybranych biomarkerów zmian urazowych do płynów ustrojowych ocenie poddano pozostałe (inne niż astrocyty) elementy strukturalne bariery krew mózg przy pomocy wybranych barwień (klasycznych i immunohistochemicznych). Barwieniem przeciw śródbłónkom naczyń (CD34 oraz wimektyna) potwierdzono liczne i rozсіяne uszkodzenia śródbłónków drobnych naczyń mózgowych, a barwieniem trichromem Mallory'ego (wybarwiającym m.in. błonę podstawną naczyń) wykazano

podobne, liczne rozlane uszkodzenia błony podstawnej drobnych naczyń mózgowych. Powyższe wyniki wskazują na rozlane uszkodzenie bariery krew-mózg i bariery mózg-płyn mózgowo-rdzeniowy po doznanych (śmiertelnym i nieśmiertelnym) urazie głowy. Innymi potencjalnymi drogami przenikania badanych biomarkerów urazów głowy do płynów ustrojowych, które przedyskutowano w cyklu prac jest układ limfatyczny mogący mieć udział w transporcie ww. biomarkerów do płynu mózgowo-rdzeniowego przestrzeni podpajęcznej, krwi lub układu limfatycznego w obrębie szyi, a także transport wewnątrzkomórkowy do naczyń krwionośnych z udziałem makrofagów/fagocytującego mikrogleju.

W prowadzonych badaniach odnośnie markerów ostrego niedokrwienia i niedotlenienia ośrodkowego układu nerwowego na podstawie wyników badań *in vitro* oraz badaniach na modelu zwierzęcym wytypowano potencjalny marker, którego ekspresja wyraźnie wzrastała w komórkach nerwowych, w odpowiedzi na ich niedotlenienie, mogący służyć wykrywaniu ww. zmian w badaniach immunohistochemicznych - bystynę.

W badaniach tych wyodrębniono trzy grupy eksperymentalne: grupę kontrolną (przypadki nagłych zgonów sercowych niepoprzedzonych reanimacją) oraz dwie grupy eksperymentalne - grupę, w której przyczyną zgonu było ostre niedokrwienie i niedotlenienie ośrodkowego układu nerwowego (powieszenie, zatrucie tlenkiem węgla, wstrząs krwotoczny spowodowany masywnym krwawieniem) oraz grupę, w której wystąpił ostry epizod niedokrwienno-niedotlenieniowy ośrodkowego układu nerwowego (powieszenie, utonięcie) lecz zgon poprzedzony był kilkudniową hospitalizacją oraz przypadek kontrolny - udar niedokrwienno-mózgu z udokumentowaną historią wystąpienia epizodu - około 48 godzin do momentu zgonu. Wycinki pobrane z kory czołowej zostały wybarwione barwieniem immunohistochemicznym przeciw bystynie oraz poddane ocenie ilościowej. W grupie, w której wystąpił epizod ostrego niedokrwienia i niedotlenienia ośrodkowego układu nerwowego bezpośrednio skutkujący zgonem obserwowano statystycznie istotny wzrost ekspresji bystyny w komórkach nerwowych (szczególnie w warstwach 3-5 kory mózgowej - najbardziej wrażliwej na zmiany niedokrwienno-niedotlenieniowe). W grupie, gdzie wystąpił ostry epizod niedokrwienno-niedotlenieniowy ośrodkowego układu nerwowego lecz zgon w wyniku tego epizodu poprzedzony był kilkudniowym przeżyciem oraz w przypadku udaru niedokrwienno-mózgu (o udokumentowanym czasie trwania około 48 godzin do chwili zgonu) praktycznie nie obserwowano ekspresji bystyny w neuronach, co było również statystycznie istotne i odróżniało tę grupę od grupy kontrolnej, w której przyczyna zgonu było nagłe zatrzymanie krążenia sercowo-pochodne.

Podsumowując, cykl powyższych publikacji udokumentował możliwość wykorzystania nowych biochemicznych i neuropatologicznych biomarkerów doznanych urazów głowy i ostrego niedokrwienia i niedotlenienia ośrodkowego układu nerwowego w badaniach pośmiertnych.

Jako markery biochemiczne doznanych urazów głowy, których zwiększone stężenie w płynach ustrojowych wskazuje na przeżyty uraz głowy zidentyfikowano: białko Tau, białko łańcuchów lekkich neurofilamentów, białko podstawowe mielinę oraz białko kwaśne włóknikowe astrocytów. Jednocześnie te same markery mogą być użyte w badaniach

neuropatologicznych. Markerami neuropatologicznymi doznanych urazów głowy są również białka cytoszkieletu komórek nerwowych aktywnie uczestniczących w transporcie aksonalnym, w obrębie których zmiany wskazują na zaburzenia transportu aksonalnego wynikłe z doznanego urazu głowy. Powyższe biomarkery mają zastosowanie bezpośrednio po doznaniu urazu głowy – nawet w przypadkach zgonów natychmiastowych, co odróżnia je od obecnie używanego (prekursora beta amyloidu), który jest przydatny w diagnostyce urazów głowy w przypadkach z co najmniej 30 minutowym przeżyciem.

Jako marker ostrego niedokrwienia i niedotlenienia ośrodkowego układu nerwowego zidentyfikowano bystynę, której ekspresja w komórkach nerwowych występuje bezpośrednio po doznaniu epizodzie, zanika natomiast w czasie rzędu dni po takim epizodzie.

Przeprowadzone badania udokumentowały nowe patomechanizmy zachodzące ośrodkowym układzie nerwowym jako skutek przebytych zmian urazowych. W cyklu prac omówiono również po krótko patomechanizmy mogące promować do wystąpienia w przyszłości zmian neurodegeneracyjnych po doznanych urazach głowy. Równocześnie przeprowadzone badania otworzyły nowe możliwości pośmiertnej diagnostyki biochemicznej i neuropatologicznej urazów głowy oraz epizodów ostrego niedokrwienia i niedotlenienia ośrodkowego układu nerwowego. Zapewne biomarkery te mogą mieć zastosowanie u żywych ofiar ww. epizodów – np. badanie śliny, surowicy czy moczu, co wymaga dalszych badań i walidacji tych markerów. Z ograniczeń, które niosą zaproponowane metody należy wymienić choroby degeneracyjne ośrodkowego układu nerwowego, gdzie wzrost niektórych z zaproponowanych markerów może być wykładnikiem toczącego się procesu chorobowego.

Na najbliższe lata zaplanowano pogłębione badania opisanych markerów doznanych urazów głowy w materiałach łatwo dostępnych sekcyjnie (krew i mocz), badanie wzajemnej korelacji pomiędzy stężeniami ww. biomarkerów w płynach ustrojowych oraz poszukiwanie kolejnych biomarkerów doznanych urazów głowy przydatnych w badaniach pośmiertnych.

5. Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo - badawczych.

Jednym z moich ostatnich osiągnięć naukowych jest praca wskazująca na dodatnią korelację między występowaniem ryzykownych zachowań prowadzących do śmierci a obecnością pasożyta *T. gondii* w mózgu (potwierdzona obecnością DNA pasożyta w mózgu oraz dodatnimi testami serologicznymi wykonanymi z surowicy krwi) potwierdzoną w badaniach pośmiertnych. Jednocześnie przeprowadzone badania nie wykazały korelacji między obecnością pasożyta *T. gondii* w mózgu a nadmiernym spożywaniem alkoholu.

Ponadto w moim dorobku naukowym znajdują się prace związane z diagnostyką sekcyjną - praca oryginalna dotycząca częstości występowania objawu Simona u zmarłych na skutek powieszenia, opis kilku ciekawych przypadków sekcyjnych (uszkodzenia pnia ramienno-głowego podczas zabiegu przezskórnej tracheotomii, przypadek zgonu podczas napadu padaczkowego - nagły zgon w padaczkę oraz przypadek zgonu dziecka w przebiegu skrętu jelita spowodowanego połknięciem magnesów neodymowych) oraz praca pogładowa

dotycząca samobójstw popełnianych przez zamierzone spowodowanie wypadków drogowych.

W moich osiągnięciach naukowych znajduje się cykl publikacji poświęcony neurorozwojowej toksyczności thimerosalu - organicznego związku rtęci, będącego konserwantem stosowanym w szczepionkach. Badania te prowadzone były na zwierzętach doświadczalnych (szczurach - samcach i samicach różnych szczepów) i obejmowały doświadczenia biochemiczne, behawioralne i neuropatologiczne.

Szczurzym oseskom podano domięśniowe iniekcje thimerosalu w postnatalnych dniach 7, 9, 11, 15 w dawkach od 12 do 3000 μg Hg/kg/iniekcję. Zbadano kinetykę dystrybucji thimerosalowej rtęci w głównych narządach (mózg, wątroba, nerka) i wykazano, że znaczne ilości rtęci pozostają w mózgach zwierząt eksperymentalnych nawet w 30 dni po jednorazowej iniekcji.

Badania behawioralne wykazały trwałe zmniejszenie całkowitej aktywności lokomotorycznej oraz zwiększenie lęklivosti szczurów w odpowiedzi na postnatalne iniekcje thimerosalu. U szczurów, które otrzymały iniekcje thimerosalu, stwierdzono zmniejszenie wrażliwości na haloperidol (w badaniu katalepsji po podaniu haloperidolu) oraz spadek gęstości receptorów dopaminergicznych (D2) w prążkowiu, co może to wskazywać na nasilone przekąźnictwo dopaminergiczne lub na inne zaburzenia systemu dopaminergicznego, przy czym nie tłumaczy deficytów ruchowych, które muszą mieć bardziej złożone podłoże. Zbadano wrażliwość zwierząt doświadczalnych na ból nocyceptywny w teście gorącej płyty. Wyniki eksperymentu ujawniły zmniejszoną reaktywność na bodźce bólowe u szczurów, które otrzymały postnatalne iniekcje thimerosalu. W kolejnych eksperymentach poszukiwano neurochemicznych mechanizmów wykrytego działania thimerosalu podnoszącego na próg bólowy, badając udział endogennych opioidów. Wykonano test gorącej płyty poprzedzony podaniem zwierzętom naloksonu. Nalokson zniósł analgetyczny efekt thimerosalu, co zasugerowało, że ten merkurial może potęgować działanie endogennych opioidów. W celu weryfikacji tej hipotezy, zbadano wrażliwość zwierząt doświadczalnych na kataleptyczne działanie morfiny. Wyniki doświadczenia wykazały, że thimerosal istotnie nasilał katalepsję indukowaną morfiną. Zbadano również gęstość receptorów opioidowych μ w substancji szarej okołowodociągowej (obszarze biorącym udział w ośrodkowej modulacji bodźców bólowych) i wykazano zależny od dawki thimerosalu wzrost gęstości tych receptorów, co potwierdziło wysuniętą wcześniej hipotezę. Wykonano test interakcji społecznych - szczury, które otrzymały postnatalne iniekcje thimerosalu w najwyższej dawce (3000 μg Hg/kg) wykazały zmniejszoną liczbę epizodów interakcji prosojalnych oraz zmienioną - w sposób zależny od płci - liczbę epizodów interakcji niesocjalnych/antysocjalnych, które u samców były nasilone, a u samic osłabione. W celu oceny, czy postnatalne iniekcje thimerosalu wpływają na proces uczenia się oraz pamięć przestrzenną, przeprowadzono test pamięci w Labiryncie wodnym Morrisa wykazując, że w zastosowanych dawkach thimerosal nie zaburza w sposób istotny procesu uczenia się i pamięci przestrzennej u szczurów.

W kilku doświadczeniach behawioralnych zaobserwowano różną wrażliwość samców i samic na neurozaburzające lub neurotoksyczne działanie thimerosalu, co może mieć bezpośrednie

podłoże genetyczne, lub może wynikać ze zróżnicowanego poziomu hormonów płciowych, zwłaszcza androgenów u samców i samic. W większości doświadczeń behawioralnych zaznaczył się także efekt szczepu. Szczury szczepu Lewis były mniej wrażliwe na neurotoksyczne działanie thimerosalu niż szczury szczepu Wistar, co wskazuje na prawdopodobne genetyczne bądź epigenetyczne podłoże różnej wrażliwości zwierząt na neurotoksyczne działanie tego związku.

W poszukiwaniu neuropatomechanizmów obserwowanych zmian w behawiorze zwierząt po postnatalnych iniekcjach thimerosalu, wykonano szereg badań neuropatologicznych na mózgach zwierząt doświadczalnych, wykorzystując techniki barwienia H+E oraz barwienia immunohistochemicznego. Wykazano liczne, rozsiane zmiany neuropatologiczne w obrębie kory przedczołowej, skroniowej, hipokampów i mózdzku. Obserwowano zmiany neuronów typu ischemicznego i przewlekłego, uszkodzenie komórek Purkinjego oraz uszkodzenie astrogleju bez cech reaktywnej gliozy, a także spadek gęstości synaptycznej w hipokampie.

Przeprowadzone badania biochemiczne wykazały również indukowane thimerosalem, trwałe zmiany w stężeniu neuroaktywnych aminokwasów (wzrost stężenia glutaminianu i asparaginianu ze spadkiem stężenia glicyny), w płynie pozakomórkowym analizowanym w korze przedczołowej oraz gwałtowny wzrost stężenia glutaminianu po podaniu do kory przedczołowej thimerosalu w płynie perfuzyjnym. W badaniach wykazano, iż podawanie steroidów (siarczanu dihydroepiandrosteronu) miało protekcyjny efekt na wyżej opisywane zmiany w obrębie stężeń glutaminianu i asparaginianu.

Na podstawie przeprowadzonego cyklu badań można wnioskować, że thimerosal podany we wczesnym okresie postnatalnym zaburza rozwój ośrodkowego układu nerwowego ssaków, prowadząc do trwałych anomalii behawioralnych i zmian neuropatologicznych w ośrodkowym układzie nerwowym, a jego toksyczność może być modyfikowana przez hormony sterydowe (zależna od płci).

Poza opisanymi wyżej mój dorobek naukowy stanowią pojedyncze prace prowadzone na zwierzętach doświadczalnych (szczurach) dotyczące wokalizacji i interakcji społecznych występujących u szczurów oraz apetytywnego warunkowania instrumentalnego.

Mienus Olwal