

prof. dr hab. n. med. Przemysław Bieńkowski  
Katedra i Klinika Psychiatryczna  
Warszawski Uniwersytet Medyczny

**Recenzja rozprawy doktorskiej Pani mgr Agaty Cieślik-Starkiewicz  
pt.: „Badanie roli tendencyjności poznawczej w indywidualnej podatności na przejście  
od kontrolowanego używania do niekontrolowanego nadużywania alkoholu w modelu  
zwierzęcym”**

Miejsce wykonania:  
Instytut Farmakologii im. Jerzego Maja  
Polskiej Akademii Nauk w Krakowie

Promotor:  
Pan prof. dr hab. n. med. Rafał Ryguła

Liczne publikacje z ostatnich lat wskazują dość jednoznacznie, że uzależnienia od substancji psychoaktywnych i tzw. uzależnienia behawioralne pozostaną na kolejne dekady istotnym problemem dla społeczeństw europejskich, w tym dla społeczeństwa polskiego. Wobec powyższego, tematykę rozprawy Pani mgr Agaty Cieślik-Starkiewicz oceniam, jako na wskroś aktualną i bardzo ważną, tak z teoretycznego, jak i z praktycznego punktu widzenia.

Cykl publikacji Doktorantki będący podstawą ubiegania się o stopień doktora rozumiem, jako odzwierciedlenie zainteresowania behawioralnymi i molekularnymi markerami podatności na wzmacniające i uzależniające działanie alkoholu. Zwłaszcza potencjalne markery opisujące różne aspekty tendencyjności poznawczej wybrane przez Autorkę uważam za bardzo ciekawe i warte dalszego badania, niezależnie od częściowo negatywnych wyników opisanych w rozprawie.

### **Ocena formalna**

Opisowa część rozprawy liczy 47 stron, po których zamieszczone są oświadczenia współautorów oraz oryginalne wersje publikacji, których cykl jest trzonem pracy doktorskiej Pani mgr Agaty Cieślik-Starkiewicz. Szata graficzna rozprawy oraz inne elementy oprawy formalnej zasługują na uznanie.

Mimo, że w swojej ocenie kierowałem się przede wszystkim zawartością cyklu czterech oryginalnych, powiązanych tematycznie publikacji o wysokim współczynniku IF to chciałbym podkreślić, że opisowa część wstępna (w tym rozdziały: Wprowadzenie, Cel badań, Przeprowadzone badania, Podsumowanie, Bibliografia) jest napisana przejrzysto i syntetycznie. Ryciny 1-4 umieszczone w części opisowej znacząco ułatwiają lekturę pełnotekstowych publikacji. Można i warto założyć, że do rozprawy zajrzy nie tylko recenzent, ale też osoba mniej zorientowana i dopiero poszukująca podstaw wiedzy o rozwiązywanym przez Doktorantkę problemie.

## Ocena merytoryczna i uwagi krytyczne

Recenzent powstrzyma się od detalicznego omawiania zawartości publikacji wchodzących w skład rozprawy. Wszystkie prace oceniam od strony merytorycznej bardzo wysoko. Problematyka badawcza jest oryginalna i ciekawie opisana we wstępach do publikacji. Hipotezy i cele we wszystkich publikacjach przedstawione są jasno, a dyskusja (a ściślej - "dyskusje" dla czterech prac) odnosi się uzyskanych wyników i nie wykracza poza ramy ostrożnego wnioskowania.

W tej części mojej recenzji sformułuję nieco szerzej konkretne uwagi i pytania do Doktorantki, które mogą być punktem wyjścia do pogłębionej dyskusji podczas obrony.

1. Autorka wykorzystywała łagodną deprivację od pokarmu podczas eksperymentów behawioralnych. Ograniczenie dostępu do pokarmu i redukcja masy ciała może mieć istotny wpływ na spożycie alkoholu i reakcję instrumentalną motywowaną alkoholem oraz innymi substancjami psychoaktywnymi niezależnie od wartości kalorycznej tych substancji. Zwykle jest to wzrost spożycia i przyspieszenie nabywania reakcji instrumentalnej (np. Macenski i Meisch, Exp Clin Psychopharmacol, 1999; Stuber i wsp., Synapse, 2002), co niewątpliwie sprzyja sprawnemu prowadzeniu badań.

Chciałbym jednak zauważyć, że przy przetrzymywaniu zwierząt w grupach (n=4) trudno jest dostarczyć pojedynczemu zwierzęciu 15 g pokarmu. Jeśli Doktorantka nie karmiła zwierząt w sposób kontrolowany (rozsadzanie do pojedynczych klatek na czas karmienia) to zwierzęta dominujące mogły zjadać więcej pokarmu. To z kolei automatycznie mogło przekładać się na mniejszą motywację tych osobników w testach oceniających reakcję instrumentalną nagradzaną alkoholem lub sacharozą. Zwierzęta submisywne jedząc mniej paszy wypadałyby inaczej (lepiej?) w testach motywowanych alkoholem i sacharozą, gdzie pozostawały sam na sam z nagrodą. Dodatkowo, jako zwierzęta bardziej głodne byłyby też - być może - osobnikami o innym progu bólowym (Jang i wsp., Anim Cells Syst, 2018), co ma oczywiste znaczenie w testach z szokiem elektrycznym. Piszę o tym dlatego, że analizując intrygujące dla mnie wyniki Autorki poszukiwałem innych cech, które dałoby się powiązać z "pesymizmem" czy "nadwrażliwością na negatywną informację zwrotną". A tu takie cechy, jak submisywność i wrażliwość na bodźce bólowe (także - lękowość, depresyjność) nasuwają się w dość oczywisty sposób.

Byłbym wdzięczny Doktorantce za próbę odniesienia się tego scenariusza i potwierdzenie lub zaprzeczenie moim dywagacjom, np. poprzez przywołanie monitorowanej przewlekle masy ciała i/lub spożycia pokarmu oraz progu bólowego dla wyodrębnionych w poszczególnych publikacjach podgrup zwierząt "wrażliwych" / "niewrażliwych" lub "optymistycznych" / pesymistycznych".

2. Autorka nie prezentuje w pracach nr 1 i nr 4 wyników fazy wygaszania reakcji instrumentalnej motywowanej alkoholem w ujęciu dzień po dniu. Samo spełnienie kryterium wygaszenia reakcji instrumentalnej niewiele mówi o dynamice tej reakcji

dzień po dniu, niewiele też mówi o liczbie naciśnień pierwszego czy drugiego dnia, które obrazują, niejako przy okazji, poszukiwanie substancji (*seeking*).

Należy też pamiętać, że wygaszanie jest procesem aktywnym z perspektywy badanych przez Autorkę procesów - uczeniem się, nabywaniem nowych informacji o środowisku, wpływającym na ekspresję licznych genów np. układu glutaminianergicznego (Sutton i wsp., *Nature*, 2003; Self i wsp., *Learn Memory*, 2004, także prace z IF PAN, np. Smaga i wsp., *Neuroscience*, 2020). Nie należy więc zbyt łatwo utożsamiać abstynencji i wygaszania. Abstynencja z wielodniowym, dobieranym indywidualnie (do spełnienia kryterium) wygaszaniem reakcji instrumentalnej jest procesem bardziej złożonym i zostawia po sobie ślad inny niż sama abstynencja.

3. Nie jestem pewien czy da się odnaleźć w rozprawie kryteria behawioralne "niekontrolowanego nadużywania" (jak w tytule rozprawy), "*compulsive drinking*" (jak w tytule pracy nr 1) lub "*compulsive seeking*" (jak w tytule pracy nr 2)? Pojęcia te sugerują wprost, że Autorka obserwowała przejście z fazy nie-kompulsywnego i kontrolowanego spożycia do fazy kompulsywnego i nie-kontrolowanego samopodawania lub poszukiwania etanolu - stąd moje pytanie.

Niezależnie od tego, z recenzenckiego obowiązku wspomnę, że "nadużywanie" (*abuse*, pojęcie zaadaptowane do literatury polskojęzycznej z DSM-IV; "szkodliwe używanie" występowało w ICD-10) nie jest pojęciem odnoszącym się wprost lub głównie do utraty kontroli lub kompulsji. Co więcej, "nadużywanie" może być diagnostycznie luźno skorelowane z "uzależnieniem" (*dependence*) obejmującym lub nie utratę kontroli (*addiction*), stąd między innymi zmiany w kolejnych edycjach w/w klasyfikacji i eliminacja nieostrego pojęcia *abuse* (Rounsaville i wsp., *Addiction*, 1993). Autorka słusznie używa w dyskusjach do poszczególnych publikacji pojęć "*compulsive seeking*" czy "*addiction*", a nie "*uncontrolled abuse*", co byłoby chybotliwą kalką tytułu doktoratu.

Powyższe rozważania to tylko z pozoru kwestia poboczna i teoretyczna. Autorka interpretując wyniki pracy nr 2 zastanawia się - i słusznie - dlaczego zwiększona wrażliwość na negatywne informacje zwrotne (zapewne u różnych gatunków ssaków powiązana z negatywnymi stanami afektywnymi) nie wzmaga zainteresowania alkoholem. Jeżeli jednak w modelu eksperymentalnym mieścimy się raczej w fazie kontrolowanego picia (samopodawania) bez wyraźnych, zdefiniowanych z góry objawów utraty kontroli (np. eskalacji dawek po abstynencji, nadwrażliwości na bodźce warunkowe i/lub stresogenne w modelach nawrotu czy psychologicznych wyznaczników zespołu abstynencyjnego) to "nadwrażliwość na negatywną informację zwrotną" może sprzyjać unikaniu alkoholu, który u szczurów, w fazie inicjacji, jest bodźcem farmakologicznie i sensorycznie złożonym - w tym również awersyjnym.

Niezależnie od powyższego, przyspieszone wygaszanie reakcji poszukiwania i samopodawania alkoholu u zwierząt z tą cechą (praca nr 2) może oznaczać lepsze uczenie się dwuznaczności, jaką niesie procedura wygaszania (reakcja X daje lub nie daje dostęp do nagrody Y) i jako takie może być cechą pożądaną w sensie

adaptacyjnym, zwłaszcza w kontekście ograniczonego dostępu do pokarmu i zarządzania wydatkowaniem energii. Cechą (wrażliwość na negatywną informację zwrotną) związaną bardziej z wygaszaniem reakcji wcześniej wzmacnianej pozytywnie, a nie z nagrodą - alkoholem.

4. Pozwolę sobie zaryzykować stwierdzenie, że Autorka nieco po macoszemu potraktowała w dyskusjach do poszczególnych publikacji otwierające się przed Nią nowe ścieżki badawcze i implikacje praktyczne uzyskanych wyników.

Na przykład, stwierdzenie wzrostu ekspresji genu i zawartości białka dla MAO-A w kluczowych dla procesów uczenia się i wyboru strategii behawioralnych strukturach mózgu (OFC, mPFC) może być przesłanką do farmakologicznej walidacji koncepcji wrażliwości na informacje zwrotne w warunkach przedklinicznych i klinicznych. Leki i substancje eksperymentalne modyfikujące aktywność MAO są w końcu łatwo dostępne, a ich podawanie w warunkach przedklinicznych i klinicznych w kontekście oceny tendencyjności poznawczej całkiem realne (np. u pacjentów z chorobą Parkinsona, z depresją czy u zwierząt z linii selekcyonowanych genetycznie pod kątem picia / niepicia alkoholu). Podobne znaczenie mogą mieć wyniki potwierdzające różnice w gęstości receptorów 5-HT<sub>2A</sub> w NAcc u szczurów "optymistycznych" i "pesymistycznych" (praca nr 4).

5. W kontekście pracy nr 4, chciałbym uwypuklić pewne słabości interpretacyjne dające się dostrzec również w dyskusji do prac 1-2. Tzw. "pesymizm" Autorka wiąże z negatywnym afektem nie odnosząc się do (i nie wykonując) testów kontrolnych, które w relatywnie prosty sposób przybliżyłyby te rozważania do pozytywnej lub negatywnej weryfikacji. Ogólnie rzecz ujmując, dla prac 1-2 i 4 wskazane byłoby poznanie ogólnej aktywności zwierząt z wyodrębnianych podgrup, progu bólowego czy wreszcie nasilenia lęku i depresyjności.

Chciałbym wyraźnie podkreślić, że sformułowane wyżej pytania i uwagi nie umniejszają wartości całej rozprawy i są raczej zachętą do pogłębienia niektórych wątków w czasie obrony przed obliczem Rady Naukowej IF PAN.

## **Podsumowanie i wnioski końcowe**

Przedłożoną mi do recenzji rozprawę doktorską oceniam wysoko i stwierdzam, że odpowiada ona wymogom ustawowym. Zgodnie z zapisami Ustawy z dn. 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. 2024, poz. 1571 z późn. zm.), rozprawa doktorska Pani mgr Agaty Cieślik-Starkiewicz potwierdza ogólną wiedzę teoretyczną Doktorantki oraz umiejętność samodzielnego prowadzenia pracy naukowej. Przedmiotem rozprawy jest oryginalny problem naukowy, który Doktorantka ciekawie przedstawia i rozwiązuje - w zakresie wyznaczonym przez powszechnie uznane reguły prowadzenia badań i zasady ostrożnego wnioskowania. Moim zdaniem, zbiór opublikowanych i powiązanych tematycznie artykułów naukowych będących trzonem rozprawy jest lekturą wysoce wskazaną dla badaczy

zajmujących się behawioralnymi i molekularnymi markerami spożycia i poszukiwania alkoholu u zwierząt doświadczalnych.

Praca posiada również ciekawe konotacje praktyczne i otwiera nowe perspektywy badawcze - co tylko wzmacnia moje przekonanie, że rozprawa doktorska Pani mgr Agaty Cieślik-Starkiewicz zasługuje na wyróżnienie. Taki wniosek (o wyróżnienie), wraz z moją pozytywną opinią o rozprawie, przedstawiam Panu Przewodniczącemu i Radzie Naukowej IF PAN.

Wnioskuje również do Rady Naukowej IF PAN o dopuszczenie Pani mgr Agaty Cieślik-Starkiewicz do dalszych etapów postępowania w sprawie nadania stopnia doktora w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu, dyscyplinie nauki medyczne.

Piaseczno, 20.01.2024 r.

Przemysław Bieńkowski