

Katowice /19.12.2022

Recenzja rozprawy doktorskiej Pani mgr Judyty Jabłońskiej „**Analiza modeli uczenia się ze wzmocnieniem związanym z działaniem nagród naturalnych i substancji uzależniających w zadaniu z probabilistycznym odwróceniem**”.

Centrum Medycyny
Doświadczalnej

40-752, Katowice
ul. Medyków 4

<http://cmd.sum.edu.pl/>

KIEROWNIK

Prof. dr hab. n. med. Jarosław Barski
tel.: (+48 32) 208 85 93
fax: (+48 32) 208 88 31

jbarski@sum.edu.pl

SEKRETARIAT

tel.: (+48 32) 208 85 93
tel.: (+48 32) 208 88 32
fax: (+48 32) 208 88 31

cmd@sum.edu.pl



HR EXCELLENCE IN RESEARCH

Rozprawa została wykonana w Instytucie Farmakologii im. Jerzego Maja PAN pod kierunkiem promotorów: dr hab. Jana Rodriguez Parkitna oraz prof. dr hab. Piotra Zielińskiego.

Przedstawiona mi do oceny dysertacja ma charakter monografii i liczy 115 stron podzielonych na 10 typowych dla tego rodzaju opracowań rozdziałów. Pierwszy rozdział to „Streszczenie” w języku polskim i angielskim. W części angielskiej można znaleźć kilka niedociągnięć językowych, które jednak nie mają większego wpływu na rozumienie tekstu.

Po tym rozdziale następuje część „Wprowadzenie”, podzielona na 5 podrozdziałów, wprowadzająca czytającego w niełatwe zagadnienia związane ze zjawiskami uczenia się, które leżą u podstawy niniejszej pracy. Część ta jest jednocześnie cennym przeglądem literatury związanej z funkcjonowaniem zjawisk nagradzania i połączonych z nimi zjawisk uczenia. Czytający znajdzie tu też opis podstawowych połączeń neuronalno-anatomicznych zaangażowanych w powyższe zjawiska. Na stronie 11 tego rozdziału znajduje się zdanie: „W badaniach behawioralnych jako nagrodę naturalną działającą wyłącznie poprzez odczucie słodkiego smaku, stosuje się słodziki. Najczęściej wykorzystywany słodzik sacharyna,(...)”. Ponieważ sacharyna jest sztucznym środkiem słodzącym, prosiłbym o wyjaśnienie określenia „nagroda naturalna”. Na stronie 13 pojawia się stwierdzenie: „W badaniach mierzono in vivo fluorescencję zależną od wapnia (...)”. Jaką metodą badawczą miała doktorantka na myśli? Domyślam się, iż chodziło tu o analizę zmian fluorescencji zależnej od wahań stężenia jonów wapniowych w komórce, zwaną popularnie „calcium imaging”. Moim zdaniem, tak też należało opisać tę metodę. Przy okazji chciałbym zauważyć, iż terminy z języka łacińskiego, jak np. *in vivo* piszemy kursywą, a „samopodawanie” (cztery linie niżej) jako jeden wyraz bez myślnika.

Istotnym aspektem metodycznym recenzowanej przeze mnie pracy są manipulacje transgeniczne oparte na systemie rekombinacji Cre/lox, również w jego wersji indukowalnej, dlatego też oczekiwałam dodatkowych informacji w tym względzie w części wstępnej. Dla ścisłości chciałabym nadmienić, iż twórcą „Barnes maze test” jest kobieta dr Carol Barnes z University of Arizona w Tucson, stąd też powinniśmy używać określenia „labirynt Barnes”, a nie jak to się powszechnie czyni „labirynt Barnes’a”.

Rozdział numer 3 dysertacji to „Cele badawcze”. Doktorantka zdefiniowała cztery takie cele badawcze, na których opiera się zarówno część eksperymentalna jak i opisowa pracy.

Rozdział „Metody” jest czwartym rozdziałem pracy i zawiera informacje związane z praktycznymi aspektami części eksperymentalnej. Podrozdział 4.1 informuje na temat zwierząt wykorzystanych w doświadczeniu oraz genetycznych aspektów ich powstania. W akapicie pierwszym tego podrozdziału Doktorantka popełniła dość powszechny błąd używając nazwy „Lokalna Komisja Bioetyczna” zamiast „Lokalna Komisja Etyczna”. W części dotyczącej zwierząt doświadczalnych nie znalazłem informacji na temat pochodzenia zwierząt, miejsca ich utrzymania oraz miejsca prowadzenia eksperymentów z ich wykorzystaniem. Mogę się jednak zakładać, iż była to zwierzętarnia Instytucie Farmakologii im. Jerzego Maja PAN w Krakowie. Brak też w tym miejscu danych odnośnie płci i wieku zwierząt wykorzystanych w eksperymencie. Odczuwam też niedosyt informacji na temat specyficzności manipulacji w systemie Cre/loxP. Z mojego punktu widzenia powoływanie się jedynie na literaturę nie jest dostatecznym dowodem na specyficzność działania rekombinazy Cre, szczególnie w jej wersji indukowalnej. Oczekiwałam jakiś danych immunohistochemicznych potwierdzających efekty zaplanowanej rekombinacji materiału genetycznego oraz jej skutków na poziomie translacji.

Podrozdział 4.2 opisuje wyposażenie oraz testy zaprojektowane do oceny zachowania zwierząt wykorzystywanych w części eksperymentalnej dysertacji. Doktorantka opisuje zasadę działania aparatu IntelliCage oraz aparatu do warunkowania instrumentalnego. Rozdział ten uzupełnia informacja na temat metod statystycznych i modeli obliczeniowych wykorzystanych do analizy uzyskanych danych eksperymentalnych. Czytając ten rozdział nie doszukałem się informacji, dlaczego część testów była wykonana z wykorzystaniem samców, a część z wykorzystaniem samic.

Piąty rozdział dysertacji to „Wyniki”. W podrozdziale 5.1 znajduje się informacja mówiąca, iż jedna z grup eksperymentalnych otrzymywała jako nagrodę mieszaninę 0,1% roztworu sacharozy i 4% roztworu etanolu, brak jednak informacji w jakich stosunku były połączone oba roztwory.

Na stronie 49 Doktorantka wskazuje na nieprawidłowości w danych. Czy chodzi o problemy z rejestracją liżnięć, o których mowa przy opisie systemu IntelliCage w podrozdziale 4.2.1.? Pomijając te drobne niedociągnięcia, rozdział „Wyniki” zawiera bardzo szczegółowy i precyzyjny opis

przeprowadzonych testów oraz modeli matematycznych opisujących uzyskane wyniki.

Przeprowadzone doświadczenia pozwoliły na ocenę strategii stosowanej przez badane zwierzęta w testach, które wymagały umiejętności uczenia się ze wzmocnieniem. Dodatkowo udało się Doktorantce przeanalizować widoczne w eksperymentach zależności pomiędzy przyjętą strategią, a czasem jaki upływał do podjęcia działania. Wstępna część eksperymentów wykazała również różnice w wynikach testów w zależności od rodzaju stosowanej nagrody. Pierwsza część badań została wykonana z zastosowaniem systemu IntelliCage w przypadku zwierząt z linii standardowej, bez modyfikacji genetycznych C57Bl/6, zwierząt z zablokowaną ekspresją receptorów serotoninowych 5-HT₇ oraz zwierząt, u których dokonano selektywnej inaktywacji receptorów NMDA na komórkach serotonergicznym. Ostatnią część eksperymentów stanowiła analiza wpływu inaktywacji receptorów NMDA na proces uczenia się w teście wykorzystującym klatki do warunkowania instrumentalnego. Najtrudniejszą częścią rozdziału „Wyniki”, była bez wątpienia próba opisu uzyskanych danych behawioralnych z zastosowaniem zaproponowanych modeli matematycznych i statystycznych w taki sposób, aby możliwa była jak najbardziej obiektywna ocena procesu uczenia się w zależności od wykorzystanego testu, przy jednoczesnym wskazaniu różnic zależnych od inaktywacji receptorów serotoninowych 5-HT₇ lub NMDA.

Eksperymenty zostały przeprowadzone z dużym nakładem pracy i zaangażowaniem, podobnie jak ich analiza statystyczna. Opis oraz prezentacja graficzna, znacząco ułatwiły zrozumienie tego dość skomplikowanego przedsięwzięcia. Doktorantka na podstawie zdobytego doświadczenia wskazała również na wady i zalety obu zastosowanych metod badawczych. Wydaje się jednak, iż zastosowane manipulacje genetyczne nie wpłynęły w bardzo istotny sposób na zachowanie zwierząt analizowane w przeprowadzonych doświadczeniach, choć pewne modyfikacje były wyraźnie widoczne. Opisane wyniki wyraźnie wskazują na fakt, iż wnioski uzyskane na podstawie danych eksperymentalnych mogą się różnić od siebie w zależności od zastosowanej metody badawczej.

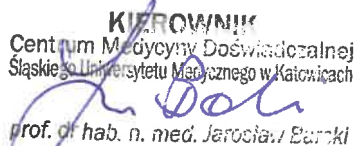
Szóstym rozdziałem rozprawy jest „Dyskusja”. W rozdziale tym Doktorantka nie tylko porównuje otrzymane wyniki z danymi literaturowymi, ale również analizuje je krytycznie wskazując na ich ewentualne niedoskonałości. W rozdziale tym znalazłem również wyjaśnienie, dlaczego do doświadczeń z wykorzystaniem systemu IntelliCage wykorzystywano samice, natomiast do doświadczeń w klatkach do warunkowania instrumentalnego samice. Przyczyna jest raczej prozaiczna, a był nim brak dostępu do odpowiedniej liczby zwierząt. Można się domyślać, że chodzi o dostęp do zwierząt z linii transgenicznym, nie jestem jednak do końca przekonany, czy dla mnie jako recenzenta jest to wystarczające wytłumaczenie. Wykorzystanie zwierząt obu płci we wszystkich testach byłoby niewątpliwym wzbogaceniem części eksperymentalnej, umożliwiającym analizę

wpływu płci na uzyskane wyniki. Natomiast wykorzystanie zwierząt jednej płci, najlepiej samców, uprościłoby interpretację wyników, a tym samym doktorantka uniknęłaby zamieszania jakie spowodowało użycie w jednych testach samic, a w innych samców. Taka sytuacja powoduje wrażenie (być może mylne) nadmiernego pośpiechu podczas realizacji części eksperymentalnej dysertacji. Omówienie otrzymanych wyników, opiera się na bogatym piśmiennictwie, liczącym ponad 200 pozycji literaturowych, zgromadzonych w rozdziale numer 8. Wnioski wypływające z eksperymentów i ich analizy zostały podsumowane w rozdziale 7. Wnioski są odpowiedzią na cele badawcze przedstawione w rozdziale 3. Wnioski zostały sformułowane w sposób krytyczny ze wskazaniem na słabe i mocne strony eksperymentu. Całość dysertacji zamykają zestawienia rycin i tabel zebrane odpowiednio w rozdziałach 9 i 10.

Podsumowanie:

Przedstawiona mi do oceny rozprawa doktorska wskazuje na wysoki poziom wiedzy mgr Judyty Jabłońskiej pozwalający na ubieganie się o stopień doktora w dyscyplinie nauki medyczne. Świadczy o tym dostrzeżony przez Doktorantkę problem badawczy, którego rozwiązanie w postaci przeprowadzonych eksperymentów wraz z ich analiza i opracowanymi wynikami świadczą o dużej samodzielności Doktorantki. Oceniana dysertacja stanowi oryginalne rozwiązanie badawcze, które przyczyni się do rozwoju dziedziny naukowej jaką są nowoczesne badania behawioralne. Dostrzeżone niedociągnięcia wskazane przeze mnie w recenzji nie wpływają na wysoką wartość merytoryczną pracy.

Biorąc pod uwagę powyższe stwierdzam, iż rozprawa doktorska mgr Judyty Jabłońskiej spełnia warunki określone w art. 187 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (t.j. Dz. U. 2022, poz. 574 z późn. zm.). oraz wnioskuję do Rady Naukowej Instytutu Farmakologii im. Jerzego Maja, Polskiej Akademii Nauk o dopuszczenie do dalszych etapów postępowania w sprawie nadania stopnia doktora w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu, dyscyplinie nauki medyczne [wszczętego na podstawie Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (t.j. Dz. U. 2022, poz. 574 z późn. zm.) w nawiązaniu do art. 179 pkt 7 Ustawy z dnia 3 lipca 2018 r. – Przepisy wprowadzające ustawę – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz., U. 2018, poz. 1669 z późn. zm.)].

KIEROWNIK
Centrum Medycyny Doświadczalnej
Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach

prof. dr hab. n. med. Jarosław Burcki