

Warszawa, 9 marca 2026

Recenzja rozprawy doktorskiej mgr Klaudii Misiołek

Praca doktorska zatytułowana “*Reward sensitivity, social motivation and endogenous opioid signaling in adolescent C57BL/6 mice*” została wykonana przez mgr Klaudię Misiołek w Zakładzie Neurofarmakologii Molekularnej Instytutu Farmakologii im. Jerzego Maja Polskiej Akademii Nauk pod kierunkiem prof. dr. hab. Jana Rodriguezza Parkitny. Rozprawa została napisana w języku angielskim i ma charakter hybrydowy. Obejmuje wstęp, cele badawcze, omówienie dwóch opublikowanych prac badawczych (Misiołek et al., *Scientific Reports* 2023; Misiołek et al., *Frontiers in Behavioral Neuroscience* 2025), w których kandydatka jest pierwszą autorką (pełne teksty zamieszczono na końcu rozprawy), a także dodatkowe, nieopublikowane wyniki oraz dyskusję. Istotny wkład autorki w powstanie opublikowanych prac nie budzi wątpliwości, co potwierdzają oświadczenia współautorów. Tematyka pracy dotyczy roli endogennego układu opioidowego w mózgu, w szczególności znaczenia dynorfiny i receptorów kappa-opioidowych (KOR) w rozwoju społecznego układu nagrody w okresie adolescencji. Badania koncentrują się na zmianach molekularnych i behawioralnych zachodzących w tym okresie rozwojowym u myszy.

Ogólna wiedza teoretyczna kandydatki. Wstęp rozprawy w sposób klarowny wprowadza w tematykę pracy i opiera się na właściwie dobranej literaturze przedmiotu, prezentując solidną wiedzę teoretyczną autorki w analizowanym obszarze badawczym. Omówiono w nim funkcjonowanie układu opioidowego, który odpowiada m.in. za hedonistyczny aspekt nagrody społecznej, a także samo zjawisko nagrody społecznej rozumianej jako afiliatywna interakcja z osobnikiem tej samej płci i w podobnym wieku.

Autorka przedstawia również rolę struktur mózgowych określanych jako elementy tzw. „mózgu społecznego”, takich jak kora przedczołowa, jądro półleżące, grzbietowe prążkowie, ciało migdałowate oraz pole brzuszne nakrywki, a także znaczenie receptorów opioidowych μ , δ i κ oraz sygnalizacji z udziałem dynorfiny i receptora KOR.

We wstępie omówiono także modele zwierzęce wykorzystywane do badania nagrody społecznej, w tym test preferencji miejsca warunkowanej kontekstem społecznym (social conditioned place preference, CPP), ze zwróceniem uwagi na trudności związane z warunkowaniem dorosłych zwierząt oraz sposób ich przewyciężenia w przeprowadzonych badaniach. Autorka przedstawia ponadto zagadnienie dojrzewania układu nagrody w okresie adolescencji, podkreślając jego złożony i silnie zależny od kontekstu charakter.

W dyskusji autorka w sposób właściwy interpretuje uzyskane wyniki w kontekście istniejącej literatury przedmiotu. Kolejno omawia zmiany w zachowaniu myszy obserwowane w teście preferencji miejsca warunkowanej kontekstem społecznym oraz zmiany w ekspresji dynorfiny i receptorów opioidowych w strukturach układu korowo-limbicznego. Na tej podstawie formułuje hipotezę wyjaśniającą zależność pomiędzy poziomem ekspresji prodynorfiny a wrażliwością na nagrody społeczne, odwołując się do dostępnych danych literaturowych. Podsumowując, **kandydatka prezentuje w pracy rozległą znajomość literatury przedmiotu.**

Umiejętność samodzielnego prowadzenia pracy naukowej. Zakres przeprowadzonych badań świadczy o bardzo dobrym opanowaniu przez autorkę zarówno metod behawioralnych, jak i molekularnych stosowanych w neurobiologii. W pierwszym etapie badań przeprowadzono walidację narzędzia do badania nagradzającego charakteru interakcji społecznej z osobnikiem w tym samym wieku, tj. testu preferencji miejsca warunkowanej kontekstem społecznym, wykorzystując dorosłe zwierzęta. Następnie podejście to zastosowano do oceny zmian rozwojowych w zakresie wrażliwości na nagrodę społeczną oraz do porównania efektywności różnych typów nagród – interakcji społecznej, atrakcyjnego pokarmu oraz kokainy – we wczesnym, środkowym i późnym okresie adolescencji.

Badania behawioralne wykazały że dorosłe myszy, niezależnie od płci, w podobnym stopniu uczyły się kontekstu związanego z interakcją społeczną oraz wykrywały zmieniony stan emocjonalny innego osobnika. W okresie adolescencji samce myszy charakteryzowały się natomiast obniżoną wrażliwością na nagrody społeczne, takie jak interakcje z rówieśnikami, przy braku różnic w reakcji na kokainę w porównaniu z osobnikami dorosłymi.

Równolegle autorka analizowała ekspresję genów kodujących elementy układu opioidowego – dynorfinę, enkefalinę oraz receptory opioidowe μ , δ i κ – w wybranych strukturach mózgu: korze przedczołowej, jądrze półleżącym oraz grzbietowym prążkowiu, wykorzystując metodę qPCR. Analiza ekspresji genów w homogenatach struktur mózgu wykazała zmiany zależne od etapu adolescencji, m.in. spadek ekspresji genu prodynorfiny (Pdyn) pomiędzy wczesnym a środkowym okresem adolescencji w przyśrodkowej korze przedczołowej oraz w grzbietowym prążkowiu, a także wzrost ekspresji receptora opioidowego δ (Oprd1) w jądrze półleżącym pomiędzy wczesnym a późnym okresem adolescencji.

Następnie, przy użyciu hybrydyzacji RNA in situ (RNAscope), autorka zbadała zmiany rozwojowe w rozmieszczeniu dynorfiny na poziomie pojedynczych komórek. Analiza ta wykazała m.in. wzrost odsetka neuronów somatostatynowych wykazujących ekspresję Pdyn pomiędzy wczesnym a środkowym okresem adolescencji oraz zmiany w proporcjach komórek współwyrażających Pdyn z receptorami κ i δ w grzbietowym prążkowiu oraz jądrze półleżącym pomiędzy wczesnym a późnym okresem adolescencji.

W dalszej części badań oceniono znaczenie funkcjonalne dynorfiny oraz receptora KOR w odpowiedzi na nagrodę społeczną i kokainę. Wykorzystano w tym celu myszy z delecją genu Pdyn oraz

farmakologiczną blokadę receptora KOR. Wykazano m.in., że u myszy z delecją genu Pdyn nie obserwowano istotnych zmian w podstawowych testach behawioralnych (otwarte pole, interakcje społeczne, test preferencji jasnego/ciemnego przedziału), natomiast w późnym okresie adolescencji stwierdzono obniżoną preferencję miejsca warunkowaną kontekstem społecznym. Podobne, choć nieco słabsze, zmiany obserwowano po interwencji farmakologicznej.

Zakres zastosowanych metod oraz umiejętność ich integracji wskazują na wysoki poziom samodzielności badawczej doktorantki oraz dobrą orientację w nowoczesnych technikach badawczych stosowanych w neurobiologii.

Oryginalne rozwiązanie problemu naukowego. Podjęta w rozprawie **problematyka jest istotna poznawczo**, ponieważ wiedza dotycząca mózgowych mechanizmów rozwoju zachowań społecznych – w szczególności roli endogennej sygnalizacji opioidowej w tym procesie – jest nadal ograniczona.

Uzyskane wyniki wskazują, że obniżona wrażliwość na nagrody społeczne w okresie adolescencji może być związana z rozwojową reorganizacją układu dynorfinowego w korze przedczołowej, grzbietowym prążkowie i jądrze półleżącym. Analiza ekspresji genów na poziomie pojedynczych komórek wykazała, że obserwowane zmiany dotyczą nie tylko całkowitej ekspresji genów, lecz także specyficznych populacji neuronów, w tym neuronów somatostatynowych w korze przedczołowej. Jednocześnie stwierdzono przesunięcie równowagi sygnalizacji opioidowej w kierunku układu κ , wyrażające się zwiększeniem współekspresji Pdyn i Oprk1 przy jednoczesnym spadku współekspresji Pdyn i Oprd1 w grzbietowym prążkowie i jądrze półleżącym.

Interesującą interpretacją przedstawioną w pracy jest hipoteza, że wraz z dojrzewaniem rośnie znaczenie sygnalizacji dynorfina–receptor κ , co może być związane z mechanizmami regulującymi negatywne stany emocjonalne pojawiające się np. w wyniku izolacji społecznej.

Co istotne, przeprowadzone badania wykazały, że u dorosłych osobników możliwe jest wytworzenie preferencji miejsca warunkowanej kontekstem społecznym (CPP) poprzez wielokrotną ekspozycję na znane osobniki, podczas gdy dotychczas w literaturze wskazywano, że warunkowanie tego typu u dorosłych zwierząt jest trudne lub niemożliwe do uzyskania.

Uwagi krytyczne. Ograniczeniem pracy jest korelacyjny charakter uzyskanych wyników, ponieważ zmiany behawioralne i molekularne przedstawiono równolegle, bez bezpośredniego wykazania zależności przyczynowej między nimi. Analizy molekularne przeprowadzono wyłącznie u samców. Nie można jednak wykluczyć istnienia różnic rozwojowych między płciami, co ogranicza możliwość pełnej interpretacji obserwowanych zmian na poziomie mechanizmów molekularnych. W niektórych strukturach obserwowane są również rozbieżności między wynikami qPCR i RNAscope, które mogą wynikać z odmiennych właściwości metod lub z heterogeniczności badanych populacji komórkowych.

Zagadnienia do dyskusji w trakcie obrony:

1. Autorka wskazuje, że wrażliwość na nagrodę społeczną mierzona w teście CPP jest obniżona w okresie adolescencji. Nasuwa się jednak pytanie, czy podobny efekt obserwowany byłby również w innych testach behawioralnych. Możliwe jest bowiem, że w tym okresie rozwoju zwierzęta preferują częstą zmianę partnerów interakcji społecznych lub reagują silniej na inne bodźce nagradzające. W związku z tym warto rozważyć, czy wnioski dotyczące obniżonej wrażliwości na nagrodę społeczną nie stanowią nadmiernego uogólnienia wyników uzyskanych w jednym paradygmacie behawioralnym.
2. We wnioskach autorka stwierdza, że zmniejszona wrażliwość w okresie adolescencji dotyczy nagród społecznych i pokarmowych, natomiast nie obserwowano zmian w reakcji na kokainę, co miałyby wskazywać na selektywne zmiany w przetwarzaniu nagród naturalnych w tym okresie rozwojowym. Jednocześnie jednak wyniki przedstawione na rycinie 9 oraz znormalizowane dane zaprezentowane na rycinie 13 sugerują obniżone CPP po kokainie w późnym okresie adolescencji.
3. W pracy zaobserwowano silniejsze zmiany w zachowaniu u myszy z delecją genu *Pdyn* niż po farmakologicznej blokadzie receptora KOR. Czy obserwacja ta może sugerować występowanie zmian kompensacyjnych u zwierząt z modyfikacją genetyczną?
4. W teście CPP obserwowano znaczną zmienność indywidualną zachowania. Czy możliwe jest, że wynika ona częściowo z jakości interakcji pomiędzy zwierzętami, np. z różnic w charakterze relacji z partnerem społecznym (bardziej afiliacyjnych lub agonistycznych)?
5. Na stronie 21 autorka pisze: „Similarly, in rodents, a decrease in kin-directed social reward coincides with dispersal behaviors, a species-typical adaptation that reduces inbreeding and promotes outbreeding success.” Warto jednak zauważyć, że w warunkach naturalnych zachowania prowadzące do dyspersji są najczęściej wynikiem interakcji z dominującym, starszym samcem, a nie z rodzeństwem. W związku z tym przytoczona interpretacja może wymagać doprecyzowania.
6. Praca jest starannie zredagowana, jednak miejscami pojawiają się nieprecyzyjne lub błędne sformułowania, np.:

A main effect of Conditioning was observed on distance moved (Figure 8D, $F(1.77) = 1.80$, $p = .183$)...

Analysis of the CPP index confirmed the absence of a treatment effect (Figure 9C, Treatment $F(2.37) = 7.17$, $p = .0023$)...

Pomimo pewnych ograniczeń **rozprawa dostarcza nowych i interesujących danych dotyczących rozwoju układu dynorfinowego oraz jego potencjalnej roli w regulacji motywacji społecznej w okresie adolescencji.**

Wniosek końcowy

Ja, niżej podpisana stwierdzam, że recenzowana rozprawa doktorska mgr Klaudii Misiołek spełnia warunki określone w art. 187 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (t.j. Dz. U. 2024, poz. 1571 z późn. zm.) i wnioskuje do Rady Naukowej Instytutu Farmakologii im. Jerzego Maja Polskiej Akademii Nauk w Krakowie o dopuszczenie magister Klaudii Misiołek do dalszych etapów postępowania w sprawie nadania stopnia doktora w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu, w dyscyplinie nauki medyczne.



Prof. dr hab. Ewelina Knapska

Nencki Institute of Experimental Biology
Center of Excellence for Neural Plasticity and Brain Disorders: BRAINCITY
e.knapska@nencki.edu.pl