



WARSZAWSKI
UNIwersytET
MEDYCZNY

KATEDRA I ZAKŁAD FARMAKOLOGII DOŚWIADCZALNEJ I KLINICZNEJ

Prof. dr hab. n. med. Andrzej Członkowski

Warszawa, 12. 01. 2024 r.

RECENZJA

**rozprawy doktorskiej mgr Joanny Bernackiej
„Noradrenergiczna regulacja uwalniania dopaminy w układzie
mezolimbicznym: mechanizmy receptorowe w polu brzusznej nakrywki
i ich modulacja przez stres”**

Praca doktorska wykonana w Zakładzie Farmakologii Instytutu w Pracowni Farmakologii
i Biostruktury Mózgu Instytutu Farmakologii
im. Jerzego Maja Polskiej Akademii Nauk w Krakowie
promotor: prof. dr hab. Ryszard Przewłocki
promotor pomocniczy: dr hab. Wojciech Solecki, prof. Uczelni

Badania opisane w pracy zostały zrealizowane w ramach funduszy pochodzących z:

- 1. Projektu badawczego Opus 15 finansowego przez Narodowego Centrum Nauki pt. „Poszukiwanie nowych mechanizmów terapii zaburzeń związanych z używaniem substancji uzależniających lub ze stresem „ – kierowanym przez dr hab. Wojciecha Soleckiego prof. Uczelni*
- 2. Działalności statutowej Pracowni Farmakologii i Biostruktury Mózgu*
- 3. Projektu badawczego UJ POB DIGIWORLD pt. „Aktywność mózgu wzbudzona bodźcem stresowym – funkcjonalny atlas mózgu 3 D” – kierowanym przez dr hab. Wojciecha Soleckiego prof. Uczelni*
- 4. Stypendium programu STER umożliwiającego odbycie rozwojowego stażu zagranicznego – Narodowej Agencji Wymiany Akademickiej oraz Dyrektora Krakowskiej Interdyscyplinarnej Szkoły Doktorskiej.*

Rozprawa doktorska jest starannie przygotowana i ma w zasadzie typowy układ ale nowością dla mnie było włączenie po WSTĘPIE, CELU BADAŃ, PUBLIKACJE NAUKOWE w wersji oryginalnej oraz BADAŃ DODATKOWYCH, które zawierają opis badań zawartych w publikacji naukowej wysłanej do recenzji w czasopiśmie Pharmacological Reports.

Liczy 122 strony maszynopisu w tym również DYSKUSJĘ, BIBLIOGRFIĘ streszczenia, spis artykułów stanowiących rozprawę doktorską, liczne ryciny i 3 tabele, wykaz stosowanych skrótów.

W obszernym wstępie zostały przedstawione między innymi podstawowe informacje dotyczące: 1) katecholamin, 2) anatomii funkcjonalnej układów katecholaminergicznych, 3) interakcje pomiędzy układem dopaminergicznym i noradrenergicznym, 4) funkcje i najważniejsze projekcje pola brzuszno nakrywki, 5) wpływ noradrenaliny na aktywność neuronów pola brzuszno nakrywki i uwalnianie dopaminy w przodomózgowiu, 6) wpływ stresu na układ katecholaminergiczny.

Głównym celem tej pracy doktorskiej było zbadanie wpływu aktywności receptorów noradrenergicznych zlokalizowanych w śródmózgowiu, polu brzuszno nakrywki (VTA) na poziom uwalniania dopaminy do jądra półleżącego przegrody (NAc) i podstawno-bocznego jądra migdałowego (BLA) oraz określenie czy i jak stres może wpływać na tę modulację.

Cele szczegółowe obejmowały:

1. udział podtypów receptora alfa₂-adrenergicznego w VTA w regulacji poziomu uwalniania dopaminy do jądra półleżącego nakrywki (NAc)
2. ocenę wpływu stresu na noradrenergiczną modulację uwalniania dopaminy w części podstawno-bocznej ciała migdałowego (BLA)
3. rolę wpływu aktywności receptorów alfa₂-adrenergicznych w polu brzuszno nakrywki w reakcji na stres i uczeniu się asocjacyjnym.

Materiały i metody

Badania doświadczalne wykonano na samcach szczurów hodowanych w Instytucie Zoologii i Badań Biomedycznych Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie. Zarówno materiały jak i metody zostały właściwie dobrane do założonych celów i odpowiednio opisane. W pracy wykorzystano wiele metod między innymi szybko-skannowa woltamperometria cykliczna (FSCV) metoda Western blot, operacje stereotaktyczne, badania behawioralne, wpływ bodźców stresowych (szok elektryczny) na poziom dopaminy, noradrenaliny oraz metabolitów, metodą z wykorzystaniem wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC), test warunkowania strachu, test otwartego pola oraz weryfikacja histologiczna - wymagające dużej wiedzy i nakładu pracy.

Wyniki, zostały wyczerpująco przedstawione, poddane odpowiednio dobranej analizie statystycznej oraz omówione z uwzględnieniem aktualnego światowego piśmiennictwa (218 pozycji).

Dyskusja bardzo dobrze świadczy o wiedzy Doktorantki. W zakończeniu dyskusji podkreśla, że lepsze poznanie procesów neuroadaptacji w układzie noradrenergicznym w ośrodkowym układzie nerwowym może przełożyć na przyszłe postępy w leczeniu.

Przedstawiono łącznie podsumowanie i wnioski, wśród których najważniejszy wydaje się wykazanie istotnego znaczenia układu noradrenergicznego w polu brzusznej nakrywki (VTA) dla regulacji uwalniania dopaminy do struktur przedomózgowia i wrażliwość na czynniki stresowe.

Główną rolę w regulacji uwalniania noradrenaliny do VTA, a tym samym regulacji uwalniania dopaminy przedomózgowia pełni podtyp α_2A -receptorów adrenergicznych.

Badania wskazują na VTA jako miejsce istotnych, związanych ze stresem, zmian w układzie katecholaminergicznym oraz, że sygnalizacja noradrenergiczna w VTA może mieć znaczącą rolę w kodowaniu bodźców środowiskowych i wpływać na uczenie się i modulacje odpowiedzi na bodźce warunkowe.

Próby leczenia z użyciem zarówno agonistów i antagonistów receptorów α_2 -adrenergicznych dały niejednoznaczne wyniki. Jednak wyniki przedstawionych badań wskazujące, że to właśnie receptory α_2A -adrenergiczne wydają się być dominującym podtypem autoreceptora w VTA, mogą okazać się w opracowaniu nowych leków.

Wartym zauważenia, są kończące podsumowanie, krytyczne uwagi Doktorantki, dotyczące wyników przedstawionych w pracy doktorskiej. Autorka zwraca uwagę na ograniczenia: wszystkie eksperymenty zostały przeprowadzone jedynie na samcach szczurów. Są w literaturze doniesienia o różnicach płciowych w układzie noradrenergicznym u zwierząt eksperymentalnych. Warto więc w przyszłości przeprowadzić badania dotyczące różnic płciowych w noradrenergicznej modulacji uwalniania dopaminy do przedomózgowia. Badania u uśpionych zwierząt warto rozszerzyć o obserwacje u wolno chodzących zwierząt. Ostatnim etapem proponuje Autorka byłoby przeprowadzenie bardziej szczegółowych badań molekularnych dotyczących zmian, którym ulega przekąźnictwo wewnątrzkomórkowe zależne od receptorów α_2 -adrenergicznych pod wpływem stresu.

Zamierzone cele pracy zostały osiągnięte. Na uwagę zasługuje również fakt, że wyniki zostały już opublikowane:

- 1) α_2A but not $2B/C$ noradrenergic receptors in ventral tegmental area regulate phasic dopamine release in nucleus accumbens core. *Neuropharmacology* (2022),

- 2) Acute stress modulates noradrenergic signaling in the ventral tegmental area-amygdala circuit. *Journal of Neurochemistry* (2022),
- 3) Functional significance of dopamine release in the mesolimbic forebrain by modulation of adrenergic receptors. *European Neuropsychopharmacology* (2023) w czasopiśmie o międzynarodowym zasięgu, a Doktorantka jest pierwszym autorem w dwóch publikacji.
- 4) Badania dodatkowe zostały zawarte w maszynopisie wysłanym do recenzji do czasopiśmie *Pharmacological Reports*.

Współautorzy publikacji zgodnie stwierdzają, że udział Doktorantki "polegał na wiodącej roli w tworzeniu ogólnej koncepcji badań, wykonaniu części eksperymentalnej, analizie uzyskanych wyników oraz przygotowaniu manuskryptów do druku."

Wyniki badań wskazują na nowe mechanizmy regulacyjne, poprzez które noradrenalina może wpływać na dopaminergiczny układ mezolimbiczny i modulować przekaznictwo dopaminergiczne związane z procesami uczenia się i pamięci oraz rozszerzają wiedzę dotyczącą wpływu aktywności receptorów noradrenergicznych VTA poziom uwalnianej dopaminy do jądra połączonego przegrody i jak stres może wpływać na tę modulację.

Praca doktorska mgr Joanny Bernackiej przynosi nowe, oryginalne informacje i świadczy o naukowej dojrzałości autorki. Wykorzystano w nich wiele metod wymagających dużej wiedzy i nakładu pracy Nie wnoszę żadnych merytorycznych zastrzeżeń do recenzowanej pracy. Według mojej opinii w pełni odpowiada warunkom określonym w art. 13 ust. 1 Ustawy z dnia 14 marca 2003 r. i w art. 187 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r., o Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (t.j. Dz.U.2023 r. poz. 742), stawianym pracom doktorskim.

W związku z powyższym zwracam się z wnioskiem do Wysokiej Rady Naukowej Instytutu Farmakologii im. Jerzego Maja Polskiej Akademii Nauk w Krakowie o dopuszczenie mgr Joanny Bernackiej do dalszych etapów postępowania w sprawie nadania stopnia doktora w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu, dyscyplinie nauki medyczne.

Jednocześnie pragnę zgłosić **wniosek o wyróżnienie rozprawy doktorskiej mgr Joanny Bernackiej.**



Prof. dr hab. med. Andrzej Członkowski