

Warszawa, 28 maja 2018 r.



**Instytut Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej
im. M. Mossakowskiego PAN
Środowiskowe Laboratorium Behawioralno-Metaboliczne
ul. Pawińskiego 5, 02-106 Warszawa**

dr hab. Robert Filipkowski
E-mail: rfilipkowski@imdik.pan.pl
Tel.: (+48 22) 6086 607



**Recenzja rozprawy doktorskiej mgr. Przemysława Eligiusza Cieślaka
pt. „Adaptacyjne podejmowanie decyzji u zwierząt z komórkowo specyficzną inaktywacją
receptorów glutaminianu w układzie dopaminowym i noradrenergicznym”
wykonanej w Zakładzie Neurofarmakologii Molekularnej
Instytutu Farmakologii Polskiej Akademii Nauk w Krakowie
pod opieką dr. hab. Jana Rodrigueza Parkitny**

Nie jest łatwo podjąć trudną decyzję. Decyzję o napisaniu doktoratu o decydowaniu podjął pan mgr Przemysław Cieślak, który podjął też decyzję o zbadaniu neuronalnego podłoża adaptacyjnego podejmowania decyzji przez myszy. W tym celu zdecydował się na zbadanie roli układów katecholaminowych – dopaminowego i noradrenergicznego – wykorzystując zwierzęta modyfikowane genetycznie. W swoich badaniach Doktorant wykorzystał myszy pozbawione funkcjonalnych receptorów NMDA w neuronach dopaminergicznych i noradrenergicznych a także myszy bez receptorów NMDA i mGluR5 w neuronach z receptorem D1. Pokazał on, że zwierzęta pozbawione NMDA w neuronach dopaminergicznych lub receptorów mGluR5 w neuronach D1 rzadziej wybierały częściej nagradzane działanie i działanie poprzednio nagradzane a także potrzebowały więcej czasu na podjęcie decyzji. Dodatkowo, myszy bez receptorów NMDA w neuronach dopaminergicznych wykazały mniejszy wigor działania, mniejszą motywację do wykonania zadania i poniesienia wysokich kosztów uzyskania nagrody, jak również zaburzenia przypisania wartości motywacyjnej użytym bodźcom. W drugiej części pracy Doktorant pokazał, że myszy pozbawione receptorów NMDA w neuronach noradrenergicznych wykazują większą liczbę przedwczesnych odpowiedzi, większą przerzutność uwagi, większą skłonność do wyboru częściej nagradzanej opcji i do eksploatacji nagradzanego działania. W przypadku wyżej wymienionych wyników mamy do czynienia z badaniami pionierskimi, obserwowane u wybranych zwierząt transgenicznymi prawidłowości zostały opisane i opublikowane

po raz pierwszy przez mgr. Cieślaka i jego współpracowników. Uzyskane wyniki stanowią ważny wkład w badanie podłoża procesu adaptacyjnego podejmowania decyzji.

W pierwszej części rozprawy doktorskiej mgr Cieślak musiał podjąć decyzję, o czym pisać we **Wprowadzeniu**. Doktorant wybrał rozwiązanie proste – skupił się jedynie na opisie anatomii badanych układów neuroprzekaźnikowych i funkcji, jakie pełnią w wybranych aspektach podejmowania decyzji. Nie starał się więc przejść od ogółu do szczegółu, lecz stwierdził, że będzie się zajmował jedynie wybranymi aspektami większej całości i na opisie tylko tych aspektów się skoncentrował. Pozostawia to czytelnika w niedosyć i w pewnym stopniu zagubionego. Nie wiadomo, na ile omawiane zagadnienia stanowią ważną i jaką część całości badań nad podejmowaniem decyzji. Jak „adaptacyjne podejmowanie decyzji” (zabrakło samego zdefiniowania *reward-based / adaptive decision-making*) ma się do „podejmowania decyzji”, na ile udział układów katecholaminowych jest w tym podejmowaniu kluczowy, a w jakim stopniu stanowi element większej całości – pod względem anatomicznym, sieciowym, komórkowym, neuroprzekaźnikowym etc.

Dzięki decyzji o tym, co zawrzeć we **Wprowadzeniu**, Doktorant nie musiał opisać, usystematyzować i podsumować wszystkiego, co wiemy o neuronalnym podłożu podejmowania decyzji, jednak sprawił, że czytelnikowi trudno ocenić, w jakim stopniu jego badania wpisują się w dokonania większego pola badań. Zabrakło więc szerszego spojrzenia, próby podsumowania i zestawienia różnych „podejmowań decyzji” (np. czuciowo-ruchowego, motywacyjnego, powiązanego z ryzykiem, opartego na nagrodzie itp.). Podobnie: uważa się, że w *podejmowaniu decyzji* bierze udział wiele różnych struktur, obwodów neuronalnych i układów neurotransmiterów działających równolegle. Zabrakło powiązania funkcji i anatomii w kontekście „adaptacyjnego podejmowania decyzji” i umieszczenia opisywanych badań i ich wyników w szerszym kontekście. Może warto byłoby pokazać, które struktury pełnią jakie funkcje w czasie podejmowania decyzji, by tym samym pokazać, jak złożony jest to proces i jaką jego część stanowią badane układy neuroprzekaźnikowe oraz jakie funkcje poszczególnych struktur do tej pory udokumentowano, a jakie – należą w tym względzie do dorobku Autora pracy doktorskiej (por. Orsini i wsp., 2015, *Neurosci Biobehav Rev.*, 58 : 147-67, Ryc. 1). Zaproponowanie takiego szerszego zestawienia-syntezy byłoby bardzo cenne, zwłaszcza w połączeniu z adekwatnym opisem. Ten może nastroczać trudności; sam Doktorant się bowiem trochę gubi w nielicznych fragmentach będących próbą szerszego spojrzenia, np. gdy pisze, że „wybór [...] wymaga [...] podjęcia decyzji” (s. 1).

Zabrakło mi także próby poszukiwań literaturowych i refleksji nad określeniem szlaku podejmowania decyzji i nad podłożem efektorowym podejmowania decyzji. Co o tym wiadomo? Czy istnieje i gdzie w mózgu znajduje się (lub wydaje nam się, że się znajduje) przetłacznik / „skrzynka decydująca” / transformator, w którym wszystkie za i przeciw, przewidywane zyski i straty, bieżąca

sytuacja / warunki, przyjemności i zagrożenia, potrzeby, pragnienia, lęki, bolesne i miłe doświadczenia się ogniskują, sumują, znoszą, wzajemnie pobudzają lub hamują, by wybuchnąć nagle jedną, określoną, precyzyjną decyzją? Czy bardziej chodzi o przełączanie strategii, znoszenie się rozwiązań przeciwstawnych? Co o tym wiadomo? Na ile naszą niewiedzę widać ogromną?

W ramach kolejnego rozdziału pt. „**Cel badań**” nie znalazłem, wbrew nazwie, jednoznacznie sformułowanego celu badań. Kluczowym fragmentem tej części pracy są dwa pytania badawcze nazwane zagadnieniami. Błędy w tego typu określeniach metodycznych to przejaw powszechnie występującego problemu w naszym środowisku: pojęcia „hipoteza”, „cel badań” i „pytanie badawcze” stały się pojęciami wymiennymi o słabo zarysowanych definicjach i zakresie znaczeniowym.

W „**Materiałach i metodach**” przedstawiono zastosowane szczepy myszy, metody behawioralne i metody analizy danych. Użyte w pracy myszy transgeniczne nie zostały w dostatecznym stopniu opisane. Autor ograniczył się jedynie do podania licznych publikacji opisujących zastosowane szczepy myszy. Zabrakło zwłaszcza informacji dotyczących występowania poszczególnych mutacji u zwierząt eksperymentalnych, tzn. stopnia i specyficzności eliminacji poszczególnych genów w określonych grupach neuronów i strukturach mózgu. Zabrakło także podstawowej charakterystyki użytych zwierząt pod względem behawioralnym, podczas gdy np. myszy NR1^{DATCreERT2} wykazały tendencję do zwiększonej liczby ruchów i dłuższej przebytej drogi w klatce domowej i otwartym polu (Engblom i wsp., 2008, Neuron, 59:497-508). Nie wiemy, na ile podstawowe zachowania motoryczne, poziom lęku, poziom zachowań depresyjnych są u badanych szczepów zmienione, a to może mieć wpływ na ich zachowanie w bardziej wyszukanych modelach.

Cennym elementem rozdziału „**Materiały i metody**” jest z kolei tabela zestawiająca i opisująca zwierzęta wykorzystane w doświadczeniach (Tab. 1, s. 23). Uwagi dot. Tabeli: użyto różnej liczby cyfr po przecinku, a raczej po, niestety, kropce, przy podawaniu wieku i wagi zwierząt; zabrakło numerów poszczególnych eksperymentów (co ułatwiłoby „nawigację”). Należy także zauważyć użycie szerokiego zakresu metod behawioralnych i analizy danych, choć zabrakło uzupełniających metod biochemicznych czy farmakologicznych. Jednocześnie nie znalazłem informacji, w jakim stopniu Doktorant zaangażowany był w genotypowanie zwierząt.

Uzyskane **Wyniki** ośmiu przeprowadzonych eksperymentów podzielono na dwie główne części. Część 1. (doświadczenia 1-4) dotyczyła wpływu utraty receptorów NMDA i mGluR5 w neuronach dopaminergicznych na uczenie się ze wzmocnieniem i motywację w poszukiwaniu nagród. W części drugiej (eksperymenty 5-8) badano wpływ utraty receptorów NMDA w neuronach noradrenergicznych na percepcyjne podejmowanie decyzji i adaptację do zmieniających się wymagań otoczenia.

Żaden z eksperymentów nie został powtórzony, co osłabia zaufanie do uzyskanych wyników. Część doświadczeń wykonano z użyciem tych samych grup zwierząt. Jednakże w kilku przypadkach

użyto różnych grup a uzyskane wyniki były podobne, np. wskazywały na różne defekty adaptacyjnego podejmowania decyzji lub na szereg szczególnych zdolności dokonywania właściwych wyborów, co z kolei zwiększa zaufanie do tych wyników. Cenne i pomocne są wykorzystane przez Doktoranta kolory użyte w rycinach, konsekwentnie powtarzane w ramach poszczególnych grup myszy transgenicznych. Podobnie cenna jest tabela statystyczna (Tab. 5., s. 88) umieszczona na końcu pracy. Wyniki podawane są jako średnie z odchyleniami. Nie zawsze wiadomo, czym są owe odchylenia (np. s. 36, Tab. 1., s. 23).

Dyskusja napisana jest w sposób zrozumiały i przejrzysty. W większości ogranicza się do argumentacji wyjaśniającej uzyskane wyniki, w tym porównanie tych ostatnich z już uzyskanymi – np. z użyciem nokautów tradycyjnych. Zabrakło mi krytycznego spojrzenia na własne badania, np. na fakt „powtarzalności” i „trendów” uzyskanych wyników, które mogą wskazywać, że u badanych zwierząt zmieniona jest rzeczywiście jedynie jedna funkcja/cecha, co jednak przekłada się na różne składowe zachowania zwierząt o podobnym wektorze. Zabrakło także wyraźnego określenia oryginalności poszczególnych wyników.

Styl i język pracy

Praca jest przygotowana starannie, jest bardzo dobrze napisana odpowiednim naukowym językiem. Występują w niej jedynie nieliczne błędy językowe i redakcyjne, np.:

- użycie za każdym razem kropki zamiast przecinków jako separatorów dziesiętnych (np. s. 22, 23 (tabela), 33, 36, 38, 39, 42, 46 i in.),
- „ilość” zamiast „liczby” (np. „ilość wizyt”, s. 27, 44, 46; „ilość odpowiedzi”, s. 27, 45, 46, 51; „ilość wetknięć”, s. 27, s. 49; „ilość nagród”, s. 35; „ilość wyborów”, s. 43; „ilość trafień”, s. 51; „ilość alarmów”, s. 51; „ilość prób”, s. 53, 54),
- niepotrzebne przecinki (np. „W hodowli, zwierzęta oddzielano od matek...”, s. 21; „W przypadku deprivacji wodnej, każde zwierzę...”, s. 24; „W dni eksperymentalne, myszy były pojone...”, s. 24; „W czasie trwania sesji, bodźce prezentowane były...”, s. 26),
- „nasilenie transmisji dopaminergicznej [...] odwracało deficyty motywacyjne” (zamiast „znosiło”, s. 7, anglicyzm),
- brak wyjaśnienia zastosowanych skrótów (np. Ryc. 1., s. 20),
- brak „r.” w określeniach dat (np. „26 marca 2015”, s. 21),
- „w boksach ograniczający(ch) dostęp dźwięków...” (s. 24),
- „sesja składa(ła) się” (s. 25, linia 7; por. s. 25, linia 17),
- „5 sekundową przerwą” (s. 26); „5 sekundowej prezentacji” (s. 28, anglicyzm),
- „metodę opisaną przez McDonald(a) i in. (Michaela McDonalda)” (s. 27),
- „reset” zamiast „wznowienia” (s. 28),

- „przez Rutledge(')a” (s. 32),
- „jak największą ilości nagród” (s. 35),
- „Następnie, sprawdziłem czy...” zamiast „Następnie sprawdziłem, czy” (s. 37 i 42),
- „czas jaki upłynął” (s. 40, 47, 49),
- brak przecinków w zdaniach złożonych,
- „efekt mutacji nie był (statystycznie) znamienny” (s. 40),
- „aktywności miejsca sinawego reguluje...” (s. 49),
- „można było obserwować ... wyższą ilości przedwczesnych odpowiedzi” (s. 51),
- „zdolnością do powstrzymania (się)...” (s. 51),
- „aktywności” zamiast „aktywność” (s. 65).

Mimo przedstawionych powyżej uwag krytycznych rozprawa doktorska pana magistra Przemysława Eligiusza Cieślaka pt. „Adaptacyjne podejmowanie decyzji u zwierząt z komórkowo specyficzną inaktywacją receptorów glutaminianu w układzie dopaminowym i noradrenergicznym” zasługuje na bardzo pozytywną ocenę i spełnia warunki określone w art. 13. ust. 1. Ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. nr 65, poz. 595 z późn. zm.). Z pełnym przekonaniem składam zatem wniosek do Wysokiej Rady Instytutu Farmakologii PAN w Krakowie o dopuszczenie pana magistra **Przemysława Eligiusza Cieślaka** do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Jednocześnie ze względu na uzyskane istotne wyniki i ich częściowe opublikowanie w czasopiśmie o zasięgu międzynarodowym składam także wniosek o wyróżnienie rozprawy.

Z poważaniem

Robert Filipkowski