



UNIWERSYTET MEDYCZNY IM. KAROLA MARCINKOWSKIEGO W POZNANIU

**Zakład Genetyki w Psychiatrii**  
**Katedry Psychiatrii**

Kierownik: dr hab. n. med. Joanna Pawlak  
ul. Rokietnicka 8, 60-806 Poznań  
ul. Szpitalna 27/33, 60-572 Poznań  
tel. +48 61 8547 640, +48 61 8547 641  
fax. +48 61 8547 663

Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu BIURO RADY DYSCYPLINY NAUKI MEDYCZNE	
wpt. dnia	23-08-2022
L. dz. RN-BM/	1349

RN-BM/1122/2022

Dr hab. n. med. Joanna Pawlak

Poznań, dnia 17.08.2022 r.

Zakład Genetyki w Psychiatrii

Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

**Recenzja rozprawy doktorskiej**

**Pana mgr Tomasza Bielawskiego**

**pt. „Chroniczny stres a funkcjonowanie poznawcze jednostki  
w zwierzęcym modelu traumy”**

**Promotor: prof. dr hab. n. med. Dorota Frydecka,**

**Promotor pomocniczy: dr n. med. Bartłomiej Stańczykiewicz**

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska jest złożona z cyklu trzech publikacji, które ukazały się w recenzowanych czasopismach punktowanych IF oraz przez MNiSW, w których Doktorant jest pierwszym autorem. Dwie prace, zatytułowane "Epigenetic mechanisms, trauma, and psychopathology: targeting chromatin remodeling complexes" oraz „Endocannabinoid system in trauma and psychosis: distant guardian of mental stability”, są pracami poglądowymi. Ukazały się w czasopiśmie Reviews of Neurosciences w 2019 i 2021 roku, uzyskując łącznie 8,6 punktów IF i 140 punktów MNiSW. Trzecią część cyklu stanowi praca: "Trauma disrupts reinforcement learning in rats – a novel animal model of chronic stress exposure", która została opublikowana w 2022 roku w czasopiśmie Frontiers in Behavioral Neuroscience (IF = 3,34 pkt.; MNiSW = 100 pkt.) Łączna punktacja cyklu wynosi 240 punktów Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego, a sumaryczny wskaźnik Impact Factor wynosi 11,94.

Opracowanie rozprawy zawiera na początku podziękowania, spis treści oraz polsko- i anglojęzyczne streszczenia. Nie umieszczono w opracowaniu wykazu stosowanych skrótów.

Wstęp w pierwszym akapicie omawia definicje traumy w świetle badań medycznych i psychoanalitycznych. Dalej odniesiono się ogólnie do wpływu traumy na rozwój objawów psychopatologicznych i zaburzeń psychicznych, takich jak zespół stresu pourazowego, schizofrenia, zaburzenia afektywne czy osobowości. Doktorant bardzo zwięźle przedstawił neurobiologiczną aktywację osi podwzgórze-przysadka-nadnercza oraz efekty epigenetyczne doświadczenia traumy. Nakreślił także biologiczną rolę układu endokannabinoidowego, zwłaszcza w odniesieniu do jego wpływu na funkcje poznawcze. W dalszej kolejności czytamy o uczeniu się wzmacnianym nagrodą i karą oraz pomiarze postępów tego procesu z wykorzystaniem testu Probabilistic Selection Task (PST) w modelach ludzkim i zwierzęcym. W ostatniej części wstępu Doktorant omawia nowoopracowany w swoich badaniach protokół chronicznej ekspozycji gryzoni na doświadczenia traumatyczne z pomiarem jego następstw przy użyciu PST i SIT (tj. testu interakcji społecznych ang. Social Interaction Test). Wymienione zostały hipotetyczne struktury mózgu zaangażowane w odpowiedź na stresor oraz uczenie się z nagród i kar, a zatem czynnościowo związane z funkcjami badanymi tym protokołem.

W kolejnym rozdziale opracowania zaprezentowano cele i założenia rozprawy doktorskiej z podziałem na poszczególne publikacje tworzące cykl.

Sekcja omawiająca materiał i metody badawcze odnosi się do trzeciej publikacji w cyklu "Trauma disrupts reinforcement learning in rats – a novel animal model of chronic stress exposure". Wykorzystano w badaniu 20 osobników męskich szczurów linii Wistar. Każde zwierzę przeszło fazę aklimatyzacji i zapoznania z aparaturą. Następnie szczury uczyły się wykorzystywać urządzenie dotykowe do uzyskania nagród w postaci porcji słodkiego płynu do spożycia (doświadczenie PST). W drugim etapie zwierzęta w warunkach nie stresowych kontynuowały zadania PST i odbyły badanie interakcji z nieznanym osobnikiem. W trzeciej fazie grupa badana została podzielona na podgrupę poddaną traumie poprzez dostarczenie substancji zapachowej drapieżnika (Rysia rudego), a grupa kontrolna odbywała dalszy trening funkcji poznawczych i test SIT bez działania chronicznego stresu. Doktorant dalej omówił i uzasadnił wybór metod statystycznych zastosowanych do oceny rezultatów protokołu doświadczalnego.

Na stronie 18 opracowania znajduje się zestawienie publikacji tworzących cykl wraz z danymi bibliometrycznymi, a następnie umieszczone są artykuły stanowiące podstawę nadania stopnia naukowego doktora.

Podsumowanie wyników zostało podzielone na trzy części odpowiadające publikacjom Doktoranta.

Przytoczone wnioski dotyczą procedury badania behawioru szczurów poddanych ekspozycji na przewlekły stres w postaci zapachu drapieżnika oraz procesu uczenia się w takich warunkach. Model szczurzy został opracowany tak, by jak najlepiej odpowiadał warunkom testu PST u ludzi (wykorzystanie ekranu dotykowego, na którym wyświetlane są symbole). Otrzymane wyniki wskazują na pogorszenie uczenia się ze wzmocnień pod wpływem ekspozycji na pierwszy i chroniczny bodziec stresujący. Wskazują także na wpływ stresora pod postacią zapachu drapieżnika na zachowania społeczne, ale nie wywołują ciężkiego nasilenia zachowań typu zneruchomienia lub głębokiej anhedonii.

Jako wnioski z prac teoretycznych Doktorant przedstawia rolę układu endokannabinoidowego w równoważeniu aktywacji osi stresu oraz powiązanie epigenetycznych zmian ATP-zależnych kompleksów remodelujących chromatynę z objawami wycofania społecznego i obniżenia funkcji poznawczych pod wpływem traumy. Potencjalnych biomarkerów doświadczenia traumy można byłoby poszukiwać wśród ligandów receptorów endokannabinoidowych.

Dalej zamieszczono spis najważniejszej literatury obejmujący publikacje oparte na badaniach na ludziach, na grupach pacjentów, jak i na modelach zwierzęcych.

Podano informację o źródle finansowania badań (grant UMW „Młodzi Naukowcy”, STM.c230.18.037) oraz zamieszczono oświadczenia współautorów prac, wskazujące na wiodący wkład Doktoranta w prowadzenie badań i przygotowanie publikacji. Na końcu opracowania znajduje się nota biograficzna Pana mgr Tomasza Bielańskiego i wykaz publikacji Autora.

W opracowaniu umieszczono dwie uchwały Lokalnej Komisji Etycznej do spraw doświadczeń na zwierzętach. Odzwierciedlają one proces doskonalenia wiedzy Doktoranta i podjętego eksperymentu poprzez zamianę pierwotnie planowanego badania na myszach na protokół obejmujący szczury.

W tym miejscu chciałabym podkreślić korzyści wynikające ze wspomnianej zmiany. W modelach zwierzęcych zaburzeń psychicznych obserwujemy zmiany behawioralne zwierząt eksperymentalnych będące odpowiednikami zmian w zachowaniach ludzi i imitujące objawy danego zaburzenia. W protokole eksperymentu przewidziano badanie czasu interakcji pomiędzy osobnikami. U szczurów lepiej odpowiada to skłonności do interakcji społecznych

człowieka, gdyż ten gryzoń przejawia więcej zachowań stadnych np. wspólną opiekę nad młodymi. Myszy są bardziej skłonne do konkurowania, okazywania agresji w interakcji i ochrony zajmowanego terytorium.

Korzystny był także wybór linii Wistar szczurów, która nie jest zmodyfikowana genetycznie dla zwiększenia skłonności do zachowań depresyjnych. Zachowania takie jak: obojętność na słodzone napoje, skrócenie usiłowania wydostania się ze zbiornika wodnego i spowolnienie przyrostu masy ciała są typowymi miernikami zmian przypominających objawy psychopatologiczne u ludzi. Standardowo w ich indukowaniu wykorzystuje się model przewlekłego łagodnego stresu (chronic mild stress) wg opracowań Richarda Katza, Mariusza Pappa i Paula Willnera. Doktorant przedstawił w swojej dysertacji inny model o podobnych walorach eksperymentalnych. Użycie zapachu drapieżnika, jako czynnika traumatyzującego wydaje się zarówno skuteczne, jak i zadość czyni zasadom dbałości o zwierzęta laboratoryjne.

W modelach zwierzęcych zaobserwowano różnice płciowe reakcji na stres. Samice są bardziej wrażliwe na pogorszenie w takich aspektach jak: preferencja słodkich napojów, znieruchomienie w teście wymuszonego pływania lub zachowania lękowe (opóźnienie sięgania po pokarm lub skrócenie czynności pielęgnacyjnych). Natomiast samce pod wpływem chronicznego stresu gorzej radzą sobie z zadaniami związanymi z uczeniem się i pamięcią. Byłoby ciekawym porównać wpływ zaproponowanego protokołu na wyniki uzyskiwane przez obie płcie oraz zestawić nasilenie niepokoju społecznego i pogorszenia funkcjonowania poznawczego z klasycznymi testami badającymi u zwierząt anhedonię, lęk czy rezygnację.

Moim zdaniem znaczącym wzbogaceniem przeprowadzonego badania byłyby dalsze analizy, oparte o badania obrazowe mózgowia oraz genetyczno-molekularne materiału pobranego z poszczególnych obszarów mózgu. Zastanawiające jest, dlaczego nie kontynuowano procedury badawczej w tym kierunku (szczury po zakończeniu eksperymentu zostały oddane adopcyjnym opiekunom).

Takie uzupełnienie pozwoliłoby na wstępne potwierdzenie hipotez wysnutych przez Doktoranta w publikacjach przeglądowych. Bezpośrednie badania molekularne zmian epigenetycznych powstających pod wpływem stresora w tkance ośrodkowego układu nerwowego są ze względów etycznych niemożliwe u pacjentów. Dlatego wiedza neurobiologiczna posiłkuje się w tym obszarze modelami zwierzęcymi. Publikacje Doktoranta tworzące cykl jasno przedstawiają teoretyczne dowody zaangażowania poszczególnych struktur mózgu w procesy odpowiedzi na stres, jej łagodzenia i uczenia się przez wzmocnienie. Doktorant opisuje funkcję osi podwzgórze-przysadka-nadnercza, jej interakcje z przekąźnictwem endokannabinoidowym, rolę pola brzuszno-nakrywkowego, jądra

półleżącego, prążkowiec i przyśrodkowej kory przedczołowej w uczeniu z kar i nagród. Wykazuje się szeroką znajomością endo- i egzogennych agonistów receptorów kannabinoidowych CR1 i CR2, ich analogów, a także zjawiska uczenia się nowych zachowań w miejsce nieadaptatywnych, nabytych pod wpływem traumy. Publikacje prezentują również szeroką wiedzę Doktoranta dotyczącą mechanizmów epigenetycznych, ze szczególnym uwzględnieniem ATP-zależnych kompleksów remodelujących chromatynę, obok omawianej szeroko w literaturze metylacji DNA, acetylacji, metylacji i fosforylacji histonów oraz regulacyjnej roli microRNA.

Znakomite biologiczne przygotowanie idzie tu w parze z wykształceniem psychologicznym, dzięki czemu Doktorant uniknął niejasności w odróżnieniu stresu i stresora. Zauważalne jest jednak, że cykl publikacji Doktoranta jedynie pośrednio odnosi się do zagadnień z zakresu nauk medycznych i zbliża się do neurobiologii.

Wspomnę także o nielicznych, drobnych redakcyjnych usterkach, które nie mają wpływu na wartość merytoryczną rozprawy doktorskiej.

W świetle przedstawionej pozytywnej oceny stwierdzam, że złożona z cyklu trzech publikacji rozprawa doktorska Pana mgr Tomasza Bielawskiego spełnia warunki określone w art.13 ust.1 Ustawy z dnia 14 marca 2003 o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. Nr 65, poz.595, z późn. zm.). W związku z tym przedkładam Uniwersytetowi Medycznemu im. Piastów Śląskich we Wrocławiu wniosek o dopuszczenie Pana mgr Tomasza Bielawskiego do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Kierownik Zakładu Genetyki w Psychiatrii

*dr hab. n. med. Joanna Pawlak*

Dr hab. n. med. Joanna Pawlak