



**Instytut Farmakologii
im. Jerzego Maja
Polskiej Akademii Nauk**

Zakład Farmakologii

Pracownia Neurobiologii Emocji i Procesów Poznawczych

Kraków, 03 grudnia 2020

Ocena rozprawy doktorskiej p.t.:
„Obwody neuronalne jądra środkowego ciała migdałowego
zaangażowane w społeczny transfer strachu” wykonanej przez
mgr Karolinę Andrakę
w Pracowni Neurobiologii Emocji Instytutu Biologii Doświadczalnej im.
M. Nenckiego PAN
pod kierunkiem dr hab. Eweliny Knapskiej, prof. IBD PAN.

Walki o papier toaletowy w Australii, Włosi śpiewający wspólnie z okien swoich pozamykanych mieszkań, opustoszałe ulice miast: reakcje na pandemię wywołaną przez wirus SARS-CoV-2 pokazały, że zaraźliwy jest nie tylko sam wirus ale i związane z nim emocje. Choroby są zaraźliwe, gdy przenoszą się z człowieka na człowieka, jednak według słownika języka polskiego PWN „zaraźliwy” to nie tylko „taki, którym można się zarazić” ale również „łatwo udzielający się innym”. Zarazić się zatem można nie tylko wirusem ale również śmiechem, entuzjazmem, lękiem lub paniką. Często nieadekwatne środki polityczne i gospodarcze podjęte pod wpływem emocji przez jednostki, grupy, ale i całe rządy w trakcie obecnej pandemii koronawirusa pokazały z całą mocą z jak niezwykle ważnym i ciekawym zjawiskiem mamy do czynienia.

W artykule z 1993 roku opublikowanym w czasopiśmie Current Directions in Psychological Science, psychologowie Elaine Hatfield, John Cacioppo i Richard Rapson wprowadzili po raz pierwszy termin „zarażenie emocjonalne”, aby opisać „tendencję do automatycznego naśladowania i synchronizowania ekspresji, wokalizacji, pozycji i ruchów innych osób, w celu emocjonalnego zbliżenia”. I chociaż badania prowadzone na przestrzeni ostatnich prawie 3 dekad znacząco poszerzyły nasze zrozumienie tego zjawiska z perspektywy ewolucyjnej, behawioralnej czy rozwojowej, to nasza wiedza o tym jak mózg przetwarza informacje o stanach emocjonalnych innych osobników oraz jak moduluje



zachowanie w odpowiedzi na tę informację pozostaje wciąż bardzo ograniczona. W badaniach neuronalnych aspektów zarażania emocjonalnego ważną rolę odgrywają modele zwierzęce, które naśladują to zjawisko u ludzi, a także nowoczesne metody neuromolekularne i neurogenetyczne, pozwalające oceniać zmiany ważnych parametrów neuronalnych i biochemicznych w różnych strukturach mózgu. Stanowią one niezastąpione narzędzia pozwalające śledzić na poziomie komórkowym, neurobiologiczne mechanizmy leżące u podstaw przekazywania emocji. Przedstawiona mi do oceny praca doktorska wpisuje się w ten nurt badań, posiadając niezaprzeczalne walory poznawcze. Celem przeprowadzonych eksperymentów była kompleksowa analiza funkcji obwodów neuronalnych jądra środkowego ciała migdałowatego zaangażowanych w społeczny transfer strachu w modelu zwierzęcym.

Dysertacja, wraz z piśmiennictwem liczy 111 stron, a jej układ jest typowy dla tego typu prac: streszczenie w języku polskim i angielskim, wykaz stosowanych skrótów, liczący 24 strony wstęp, jasno sformułowany cel pracy, opis materiałów i zastosowanych, niezwykle ciekawych, metod badawczych, wyniki zawierające 11 złożonych rycin, 15-sto stronicowa dyskusja otrzymanych wyników, wnioski, oraz rozległy, bo liczący aż 173 pozycje spis cytowanej literatury. Praca zawiera ponadto 4 tabele.

Wstęp stanowi przegląd dostępnej wiedzy na temat behawioralnych neuroanatomicznych i neurochemicznych korelatów społecznego transferu strachu, z naciskiem na rolę jądra środkowego ciała migdałowatego. Doktorantka nie ustrzegła się niestety pewnych błędów logicznych i niezgrabności językowych, jak np. na stronie 8, gdzie pisze, że „ze względu na rolę CeA w zachowaniach społecznych związanych z, m.in. agresją, kopulacją i opieką nad potomstwem a także z motywacją apetytywną, celem jej pracy było zbadanie jaką rolę pełni aktywacja CeA w społecznym transferze strachu” – jedno nie wynika z drugiego, czy też na końcu rozdziału 4.4, na stronie 15, gdzie znalazło się zdanie, które opisuje eksperymenty nie zawarte w przedstawionej mi do oceny rozprawie. Takich błędów jest więcej: na stronie 18 znajdujemy „hamowanie subpopulacji SOM+” choć zapewne chodziło o hamowanie aktywności tej subpopulacji neuronów, a zaraz poniżej kolokwializm w postaci stwierdzenia, że „neurony CRF+ inicjują aktywne strategie mające na celu uniknięcie zagrożenia” i „aktywną eksplorację”. Ostatni akapit rozdziału 4.7, na stronie 20 również jest niejednoznaczny, bo sugeruje, że stworzenie mapy



połączeń z ACC i INS, aktywnych podczas transferu strachu uzasadnia badanie połączeń funkcjonalnych z CeA. Wartymi wyjaśnienia byłyby również określenia: „wyższe motywacje” i „wyższe formy empatii” zawarte na stronie 22.

Generalnie, wydaje się, że w założeniach, prawie każdy podrozdział wstępu (4.3-4.7) miał prowadzić do, i uzasadniać podjęcie, jednego z celów badawczych. Niestety, efektem jest chaos, a zdefiniowane cele nie zgadzają się z tymi przedstawionymi w rozdziale „Cele pracy”: np. celu opisanego na stronie 15 nie ma w rozdziale „Cele pracy”, podobnie ma się sprawa z celem opisanym na stronie 19 (koniec rozdziału 4.6).

Rozdział „Materiały i metody” jest napisany w większości poprawnie. Tym, co zwraca uwagę jest szerokie spektrum metod badawczych zastosowanych przez doktorantkę, począwszy od metod behawioralnych, poprzez farmakologię, analizy immunohistochemiczne, operacje stereotaktyczne, manipulacje optogenetyczne oraz analizę wokalizacji ultradźwiękowych. Opisane analizy statystyczne wydają się być w większości poprawne, choć opis ten jest bardzo ogólny i zabrakło choćby wyjaśnienia, dlaczego porównania post-hoc przeprowadzone były różnymi testami: czasem LSD a czasem Holm-Sidak, oraz dlaczego do porównań przy pomocy testu t-studenta użyto korekty Welcha. Tym, czego według mnie jeszcze w tym rozdziale zabrakło to: 1.) Informacji o liczbie użytych zwierząt eksperymentalnych (ogółem i w poszczególnych eksperymentach) oraz o cyklu świetlnym w jakim zwierzęta te były trzymane (normalny czy odwrócony) 2.) Informacji o „kalibracji” szoku elektrycznego i uzasadnienia dla użycia tak mocnego szoku (1mA). 3.) Informacji, dlaczego akurat te parametry były mierzone w testach behawioralnych (Tabele 1 i 2). Należałoby wyjaśnić, co oznaczać może np. zwiększony/zmniejszony czas i liczba epizodów przeczołgiwania, czyszczenia się czy ucieczki? 4.) Informacji o objętości roztworu L-371,257 podczas infuzji do CeA. 5.) „Last but not least” zabrakło opisu eksperymentów lub rycin, przedstawiających schematy eksperymentalne dla poszczególnych doświadczeń, które to opisy pojawiają się dopiero w sekcji Wyniki- np. na stronie 49, akapit 2.

Pomimo tych uwag, umiejętność przeprowadzenia i sprawność w stosowaniu powyższych technik badawczych świadczy o bardzo dobrym przygotowaniu metodycznym doktorantki.



Wyniki przeprowadzonych eksperymentów są przedstawione w postaci wieloelementowych rycin, opisanych w niekonwencjonalnym i moim zdaniem nieprzejrzystym układzie, w którym metody mieszają się z wynikami. Niestety, tutaj również, doktorantka nie ustrzegła się błędów: 1.) Na rycinie 5A, na zdjęciach przedstawiających podwójne znakowanie immunohistochemiczne w grupach NSo i So położenie rejonów CeL i CeM jest inne (zamienione). Ponadto w opisie do tej figury doktorantka pisze, że wynik przedstawiony na figurze 5B sugeruje „że transfer strachu aktywuje również grupę komórek niezwiązaną z bezpośrednim warunkowaniem strachu” co samo w sobie nie jest nieprawdziwe, jednak z ryciny 5B możemy wywnioskować głównie, że grupa ta jest statystycznie istotnie większa niż w przypadku interakcji socjalnej. 2.) Wykres na rycinie 2C jest niezrozumiały, brakuje w nim skali i opisu osi x, a w legendzie opisane są jedynie wyniki dla czasu trwania stójek. Brak informacji o pozostałych mierzonych parametrach (eksploracja pozioma i zachowania społeczne) oraz o ilości epizodów. 3.) Analiza wyników przedstawionych w rozdziale 7.2.1. powinna zostać przeprowadzona przy użyciu 3 czynnika (sesja x grupa x miara behawioralna) a nie 2 czynnika (sesja x grupa) – podobnie jak w rozdziale 7.2.2. 4.) Zastanawiam się też nad czasem trwania testu, który nie został nigdzie zdefiniowany, a na osi Y maksymalny czas to 80 s. 5.) W rozdziale 7.2.2. maksymalny czas na osi Y to 300 s, ale skumulowany czas przedstawionych zachowań wynosi więcej niż 300 s w każdej z grup – należałoby to wyjaśnić. 6.) Zastanawiam się też nad sensem wprowadzenia tabeli nr 1, skoro w wynikach mamy inne parametry niż te opisane jako mierzone w ww. tabeli, w rozdziale „Materiały i metody”. 7.) Wyniki opisane w rozdziale 7.3 powinny zostać poddane jednoczynnikowej analizie wariancji, a nie testowi t-studenta. 8.) Wyniki eksperymentów przy użyciu testu eksploracji (rycina 11) dotyczą innych parametrów (eksploracja światła, unikanie (czego?)), niż te, które były opisane w rozdziale „Materiały i metody” (tabela 2), podobnie jest w rozdziale 7.6 (Ryc. 14). 9) Zastanawiam się również, dlaczego na rycinie 15 nie przedstawiono wszystkich rejonów mózgu opisanych w tabeli 4?

Dyskusja wyników jest logiczna i dobrze ustrukturyzowana, z uwzględnieniem poszczególnych etapów i odrębnych doświadczeń. Wyniki dyskutowane są w świetle istniejącej literatury przedmiotu, rozważania są logiczne i prowadzą w większości do poprawnych wniosków. Moim zdaniem, w dyskusji zabrakło podsumowania, w którym, w



kilku zdaniach zawarta byłaby esencja otrzymanych wyników. Zabieg ten, byłby zapewne również pomocny w klarownym zdefiniowaniu wniosków.

Rozprawę kończy rozdział „Wnioski”, które zostały sformułowane w postaci 4 punktów. Wnioski te, choć ciekawe, w większości nie stanowią odpowiedzi na pytania zdefiniowane w rozdziale „Cele pracy”. Sadzę, że podczas obrony, doktorantka mogłaby spróbować odpowiedzieć na pytania zawarte w celach szczegółowych jej Pracy Doktorskiej.

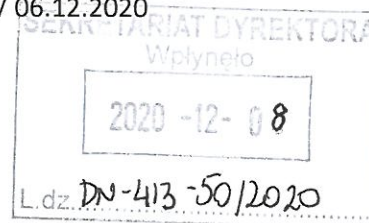
Podsumowując, pomimo krytycznych uwag, które nasunęły mi się podczas lektury, rozprawę doktorską pani mgr Karoliny Andraki „Obwody neuronalne jądra środkowego ciała migdałowego zaangażowane w społeczny transfer strachu” wykonaną w Pracowni Neurobiologii Emocji Instytutu Biologii Doświadczalnej im. M. Nenckiego PAN pod kierunkiem dr hab. Eweliny Knapskiej, prof. IBD PAN oceniam pozytywnie.

Rozprawa, choć nie pozbawiona błędów, wskazuje na dojrzałość naukową kandydatki, stanowi oryginalne podejście do ciekawego zagadnienia naukowego, odzwierciedla znaczącą wiedzę oraz umiejętność prowadzenia badań naukowych, a tym samym spełnia warunki określone w art. 13 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. z 2017r. poz. 1789 ze zm.).

Wnioskuje zatem do Wysokiej Rady Naukowej Instytutu Biologii Doświadczalnej im. M. Nenckiego PAN o dopuszczenie pani Karoliny Andraki do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Dr hab. Rafał Ryguła

Katowice / 06.12.2020

**Recenzja rozprawy doktorskiej Pani mgr Karoliny Andraki:****„Obwody neuronalne jądra środkowego ciała migdałowego zaangażowane w społeczny transfer strachu”.**

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

Przedstawiona mi do recenzji rozprawa doktorska dotyczy niezmiernie interesującego problemu badawczego jakim jest mechanizm przekazywania emocji. Eksperymenty będące podstawą tej dysertacji zostały przeprowadzone w Pracowni Neurobiologii Emocji Instytutu Biologii Doświadczalnej im. M. Nenckiego PAN w Warszawie, pod kierunkiem promotora, Pani dr hab. Eweliny Knapskiej.

Celem pracy była próba zdefiniowania obwodów neuronalnych jądra środkowego ciała migdałowego i mechanizmów odpowiedzialnych za obserwowane zjawiska przekazywania emocji pomiędzy zwierzętami eksperymentalnymi, w tym przypadku szczurami. W tym kontekście autorka analizuje również rolę oksytocyny i kortykotropiny jako czynników modulujących zachowanie będące odpowiedzią na społeczny transfer bodźców lękowych.

Recenzowana praca ma klasyczną formę monografii, składa się ze 111 stron i jest podzielona na 10 typowych dla tego rodzaju opracowań rozdziałów i podrozdziałów. Pierwsze dwa rozdziały to streszczenia treści rozprawy w języku polskim i angielskim, po których autorka zamieściła „Wykaz skrótów” zawierający wyjaśnienia skrótów zawartych w rozprawie.

Rozdział numer 4 to „Wstęp” będący podsumowaniem aktualnej wiedzy związanej z meritum rozprawy wraz zarysem możliwości metodycznych stosowanych w tego typu badaniach. Lektura części wprowadzającej, podobnie i jak i „Dyskusji” pokazuje, iż doktorantka jest doskonale zorientowana w problematyce związanej z częścią eksperymentalną rozprawy. Rozdział ten jest cennym uzupełnieniem wiedzy dla czytających spoza ścisłego kręgu badaczy biegłych w temacie dysertacji. Jedyna uwaga merytoryczna do tego rozdziału to brak wyjaśnienia terminu „mimikra”, który nie musi być znany wszystkim czytelnikom tej pracy.

W rozdziale 5, „Cele pracy” doktorantka zdefiniowała cztery zadania, które stały się podstawą zaprojektowanych i opisanych w następnym rozdziale prac eksperymentalnych.

Rozdział 6 to „Materiały i metody” zawierający szczegółowe informacje związane z technicznymi i metodycznymi detalami wykonanych eksperymentów. Zdaniem recenzenta wskazane byłoby zamieszczenie brakujących informacji dotyczących warunków utrzymania zwierząt, a mianowicie temperatury i wilgotności. Istotną, a jednak brakującą informacją jest też zakres cyklu okołodobowego, w którym prowadzono eksperymenty oraz numer zgody wydanej przez Lokalną Komisję Etyczną. Cennym uzupełnieniem opisu metodyki byłyby też zdjęcia wyposażenie wykorzystywanego do badań behawioralnych. Opisy klatek i „aparatów” są z pewnością oczywiste dla piszącego, lecz szczegóły widoczne na zdjęciu pozwalałyby na lepsze zapoznanie się z warunkami eksperymentalnymi. Na stronie 29, w podrozdziale 6.2.5. pojawia się stwierdzenie: „Test eksploracji polegał na umieszczeniu badanego szczura w opisanym wcześniej aparacie zaprojektowanym do badania zachowań o charakterze oceny ryzyka”. Można się jedynie domyślać, że chodzi o rycinę 3, ale opis jest nieprecyzyjny i nie wiadomo właściwie o jaki aparat chodzi. Jeżeli to rzeczywiście „aparat” z ryciny 3 to jest on opisany jako „aparat wykorzystywany w teście eksploracji”, a nie jak na stronie 29 jako aparat „do badania zachowań o charakterze oceny ryzyka”.

Na stronie 31, w podrozdziale 6.3.1. „Przygotowanie tkanki mózgowej” znajduje się opis sposobu eutanazji i perfuzji zwierząt. Wskazane byłoby podanie dawki morbitalu w przeliczeniu na kilogram masy ciała. Określenie śmiertelna dawka nie niesie ze sobą odpowiedniej informacji, szczególnie, iż podano jedynie stężenie substancji czynnych preparatu bez podania zastosowanej objętości. Podrozdziały 6.3.2. do 6.3.5. opisują immunohistochemiczną metodykę barwienia preparatów wykonanych ze skrawków mózgowia. Na początku wszystkich tych podrozdziałów pojawia się sformułowanie: „wybrane skrawki...”. Niestety w tekście pracy brak bliższego zdefiniowania co to oznacza, w jaki sposób wybierano reprezentatywne skrawki do dalszej analizy tak aby na ich podstawie wnioskować co do poziomu ekspresji badanych białek. W kontekście oznaczeń immunohistochemicznych chciałbym też zapytać, dlaczego doktorantka nie używała znakowania immunofluorescencyjnego w przypadku wszystkich oznaczeń?

W rozdziale 6.4.3., na stronie 37 pojawia się określenie „ferula”. Absolutnie niezbędne byłoby wyjaśnienie tego terminu i jego poprawna pisownia „ferrula”. Dociekliwy czytelnik wpisując w przeglądarkę internetową termin „ferula” dowie się, iż jest to przedmiot związany z czarną magią lub kultem religijnym.

Rozdział siódmy to „Wyniki”. Jest to najobszerniejsza część tekstu rozprawy, co odpowiada oczekiwaniom oraz obszernym danym eksperymentalnym leżącym u podstaw rozprawy. Mimo swej złożoności wyniki zostały opisane w czytelny sposób, choć być może część informacji graficznych dotyczących przebiegu testów mogłaby się znaleźć w rozdziale „Materiały i metody”, nawet gdyby miała zostać powtórzona w rozdziale „Wyniki”, np. rycina 6 A i B.

Mam też kilka uwag do opisu rycin, gdyż nie uwzględniono w nich wszystkich oznaczeń i skrótów widocznych na wykresach, np. w opisie ryciny 5 brak wyjaśnienia oznaczeń „NSo” i „So”. Podobne braki można też znaleźć w innych opisach pod rycinami zawierającymi wykresy. Oczywiście można znaleźć odpowiednią informację w tekście rozprawy, ale zgodnie z ogólnie panującymi regułami i dla wygody czytającego informacje te powinny znaleźć się w opisie pod ryciną. Mam też uwagę do opisów rycin zawierających obrazy mikroskopowe, ryciny 5 i 12. Zamieszczone zdjęcia są mało czytelne, gdyż są za małe. Na rycinie 5A (prawy panel, dwa zdjęcia jedno nad drugim) brak skali. Ponadto w opisie panelu A pojawia się określenie „zdjęcie (...) z użyciem mikroskopu optycznego”. Określenie to jest nieprecyzyjne i nic nie mówi o technice mikroskopowania. Podobne uwagi mam do ryciny 12. Zdjęcia są za małe i nieczytelne, brak na nich skali. Brakuje też informacji na temat techniki mikroskopowania i rodzaju wykorzystanego mikroskopu (np. mikroskop konfokalny).

Na stronie 59, w podrozdziale 7.3. znajduje się sformułowanie: „szczury jako zwierzęta nocne, żyjące w norach, preferują zamknięte, ocienione miejsca względem otwartych i oświetlonych”. Autorka pracy powołuje się w tym fragmencie na publikację z 1969 roku autorstwa Denenberga. Nie można odmówić słuszności temu twierdzeniu, jednak wydaje się, iż ta preferencja jest związana z większym narażeniem na zagrożenie ze strony drapieżnika, kiedy zwierzę znajduje się na jasno oświetlonej powierzchni. W tym aspekcie chciałbym zapytać, czy zastosowany, zmodyfikowany test eksploracji otwartego pola ma zdaniem doktorantki przewagę nad klasycznym testem dyskryminacji jasno/ciemno oraz czy przy badaniu tak subtelnych interakcji socjalnych nie byłoby lepiej prowadzić eksperymenty w dobie odwróconej czy nawet nocą?

Po wyczerpującym i szczegółowym opisie wyników następuje rozdział numer 8 – „Dyskusja”, wsparty bogato cytowaniami literatury. Doktorantka biegle posługuje się danymi literaturowymi przy pomocy, których interpretuje wyniki zawarte w poprzednim rozdziale. Dyskusja opiera się na obszernym wyborze publikacji (173 pozycje) zawartym w rozdziale „Bibliografia”. Celem rozdziału „Dyskusja” jest próba usystematyzowania wiedzy na temat połączeń ośrodków mózgowia potencjalnie uczestniczących w społecznym transferze strachu. W ten sposób też wyniki uzyskane podczas eksperymentów stają się uzupełnieniem istniejącej już wiedzy w tym zakresie. Rozdział ten dowodzi, iż doktorantka jest bardzo dobrze zorientowana w temacie, którym się zajmuje.

Przedostatnim rozdziałem dysertacji jest rozdział 9, w którym doktorantka sformułowała cztery wnioski. Wnioski te nie są bezpośrednią odpowiedzią na pytania zawarte w rozdziale „Cele pracy”, ale raczej podsumowaniem rozdziałów „Wyniki” i „Dyskusja”. Nie jest to jednak zdaniem recenzenta mankamentem, ale logicznym nawiązaniem do uzyskanych danych eksperymentalnych. Odpowiedzi na dość szczegółowe pytania postawione na początku pracy znajdzie czytający w rozdziale „Wyniki”,

natomiast przedstawione wnioski wskazują na rzeczywiste i bardziej ogólne konkluzje jakie wynikają z dysertacji.

Uwagi końcowe:

Z obowiązku recenzenta, ale również zawodowego obowiązku filologa chciałbym się jeszcze odnieść to lingwistycznego aspektu rozprawy.

Moje głębokie przerażenie spowodował fakt istnienia terminu jakim jest „zarażenie emocjonalne”, który to termin jest dosłownym tłumaczeniem z języka angielskiego i niesie ze sobą raczej pejoratywny ładunek.

Innym podobnie strasznym dla ucha filologa (i chyba nie tylko) jest określenie „neurony wyrażające czynnik...” (str. 18). To znowu dosłowny przekład z angielskiego. Zdaję sobie sprawę z istnienia żargonu specjalistycznego dla wielu dziedzin, ale nie ma obowiązku tłumaczenia wszystkiego za wszelką cenę na język polski. Podobnie na stronie 36, „wektory te umożliwiają stabilne wyrażanie niesionego konstruktów”!

Na stronie 49 pojawia się następujące sformułowanie: „...warunkowanie strachu stało się możliwe dzięki rozwinięciu szczepu zmodyfikowanych genetycznie szczurów...”. Recenzent rozumie co piszący te słowa miał na myśli, jednak słowo „rozwinięcie” nie jest z pewnością odpowiednie.

Recenzent czytając rozprawę znalazł jeszcze kilka drobniejszych potknięć językowych np.:

- Strona 1: „duży poziom współwystępowania”, powinno być wysoki
- Strona 7: „przyjmowanie stanów motorycznych...”, czy nie powinno być przejmowanie?
- Strona 22: „...zjawiska automatyczna mimikry”, powinno być „automatycznej”
- Strona 80: „...obserwatorzy wykonywali dokonywali...”, powinno być dokonywali

Podsumowanie:

Pytania i uwagi, które znalazły się w tej recenzji nie mają na celu podważenia jakości opisanych wyników i poddania w wątpliwość całości rozprawy doktorskiej. Ocenia praca jest wynikiem znacznego nakładu pracy i eksperymentów prowadzonych na wysokim poziomie naukowym, które przyczynią się do lepszego poznania mechanizmów leżących u podstaw zachowań społecznych.

Przedstawiona rozprawa spełnia wszystkie wymagania określone w art. 187 ustawy z dnia 20 lipca 2018 roku, Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2018r. poz. 1668) oraz załącznika nr 1 Regulaminu Rady Naukowej z 13.04.2018 roku, w związku z czym wnioskuję o dopuszczenie Pani mgr Karoliny Andraki do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Jednocześnie zwracam się do Wysokiej Rady o wyróżnienie pracy doktorskiej Pani mgr Karoliny Andraki.

Wojciech Pisula
Instytut Psychologii PAN

Recenzja rozprawy doktorskiej mgr Karoliny Andraki pt:

Obwody neuronalne jądra środkowego ciała migdałowatego zaangażowane w społeczny transfer strachu

Promotor: dr hab. Ewelina Knapska

Uwagi wstępne

Uwzględniając wytyczne Komitetu Psychologii w sprawie recenzji rozpraw doktorskich oraz własne preferencje w tej sprawie, powstrzymam się od streszczania rozprawy, koncentrując się na jej silnych i słabszych stronach. Poniżej przedstawię zatem listę zagadnień lub tematów kluczowych dla oceny rozprawy, mających potencjalny wpływ na jakość uzyskanych wyników oraz formułowane konkluzje. Kolejność poruszanych zagadnień zaczerpnąłem z rekomendacji Komitetu Psychologii PAN dla rozpraw doktorskich, ANEKS C, wytyczne dla recenzentów, http://www.kompsych.pan.pl/images/Uchwa%C5%82y/STANDARDY_dla_rozprawy_doktorskiej_jako_monografia_2020.pdf

I choć ww rekomendacje opracowane zostały z myślą o psychologii, to sądzę, że bez straty dla treści recenzji mogę je wykorzystać do opracowania niniejszej opinii.

Poszczególne kryteria oceny z przytoczonych wyżej standardów zacytowano wprost i zaznaczono kursywą.

1. Rozprawa zawiera istotne novum w stosunku do istniejącej wiedzy, to znaczy postawiony problem lub sposób jego rozwiązania nie jest jeszcze obecny w literaturze, a jednocześnie problem jest nie tylko nowy, ale też wart postawienia i rozwiązania.

Społeczny transfer emocji, badania na modelu szczurzym, jest intensywnie rozwijanym obszarem badawczym, w którym zespół E. Knapskiej ma znaczące, naukowe osiągnięcia. Rozprawa K. Andraki jest elementem tego szerokiego programu badawczego, wnoszącym istotne novum do budowanego systemu wiedzy w tym zakresie. W szczególności, nowym elementem jest powiązanie aktywności jądra środkowego ciała migdałowatego ze zjawiskiem transferu strachu. Z punktu widzenia moich zainteresowań szczególnie istotnym elementem tej pracy jest to, że zjawisko społecznego transferu emocji powiązane jest ze strukturą dość starą filogenetycznie. Co za tym idzie, rozprawa dostarcza istotnych argumentów do myślenia o ewolucji zachowania w szerszym, niż tylko aktualnie obejmowany przez rozprawę kontekście.

2. Badania są poprowadzone w ramach określonego nurtu teoretycznego, a metodologia badań jest spójna z wybraną orientacją teoretyczno-empiryczną.

Badania opisane w rozprawie K. Andraki lokują się na styku kilku dobrze wyodrębnionych podejść badawczych. Analiza zachowania zwierząt prowadzona jest w najlepszej tradycji podejścia eto-eksperymentalnego¹. Kolejnym filarem badań jest współczesna neurobiologia w wariacie przeze mnie szczególnie lubianym, określanym w literaturze anglosaskiej jako *behavioral neuroscience*. Unikając stosowania pojęcia “paradygmat”, gdyż jest to pojęcie nagminnie nadużywane, stwierdzić należy, że metodyka prac zaprezentowanych w rozprawie ma swoją własną, dostosowaną do potrzeb badawczych specyfikę, którą można uznać niezależnie od samych wyników badań za osiągnięcie, gdyż umożliwia ona łączenie elementów metodycznych wywiedzionych z odrębnych tradycji badawczych. To bez wątpienia bardzo silna strona prezentowanej rozprawy.

3. Rozprawa jest osadzona w aktualnej światowej literaturze na dany temat w taki sposób, że:

- (1) zawiera odwołania do kluczowych tekstów dla danego problemu i nie zostały pominięte żadne bardzo istotne publikacje,*
- (2) zachowano właściwą proporcję między treściami węzłowymi dla stawianego problemu, które są należycie wyeksponowane, a pobocznymi, którym nie poświęcono zbyt dużo miejsca,*
- (3) przywołane modele i badania zostały zaprezentowane w sposób poprawny, krytyczny, wyczerpujący, a zarazem klarowny i zwięzły.*
- (4) rozprawa doktorska nie ma ograniczać się do przeglądu literatury, ale ma za zadanie zaproponować jej analizę (np. oryginalną strukturyzację materiału) i do niej komentarz.*

W rozprawie K. Andraki znajdziemy bogatą bibliografię, której tematyka ściśle koresponduje z tematem prowadzonych badań oraz treścią rozprawy. Samą bibliografię przejrzałem z zainteresowaniem, traktując ją jako cenną pomoc w moich własnych poszukiwaniach. Poszczególne pozycje cytowane są adekwatnie do opisywanych treści. Nie znalazłem w rozprawie notek dopisywanych “na siłę”. W bibliografii znalazłem 13 pozycji, których współautorką jest promotor rozprawy E. Knapska. Jest to zaledwie skromna część prac E. Knapskiej, które mogłyby zostać zacytowane.

Z obowiązku recenzenckiego dodam, że w bibliografii zabrakło pozycji dotyczących interpretacji zachowania szczurów w teście eksploracji. Pojawia się kilka dość starych prac dot. risk-assessment oraz de facto jedna dotycząca eksploracji. Do wątku tego powrócę w kolejnych punktach recenzji. Na tym etapie dodam tylko, że biorąc pod uwagę nikłą wagę tej kategorii zachowania, mierzonej liczbą zacytowanych prac oraz prawie całkowity brak tej problematyki w dyskusji, można zadać sobie pytanie, po co ten test był w ogóle przeprowadzany. Aż się prosi,

¹ Blanchard, D. C., & Blanchard, R. J. (1988). Ethoexperimental Approaches to the Biology of Emotion. *Annual Review of Psychology*, 39(1), 43–68. <https://doi.org/10.1146/annurev.ps.39.020188.000355>

aby zacytować i przedyskutować prace na temat związku eksploracji i ciała migdałowatego Ireny Łukaszewskiej i kolegów. System wiedzy naukowej to system wiedzy skumulowanej przez kolejne generacje badaczy i nie ma powodu, dla którego mielibyśmy ograniczać się do cytowania prac powstałych zaledwie kilka lat temu. Podczas publicznej obrony będę prosił Doktorantkę o nadrobienie tego niedociągnięcia i dyskusję uzyskanych wyników właśnie z nawiązaniem do tych powstałych wiele lat temu w IBD prac.

4. Problemy oraz hipotezy (jeśli są postawione) zostały poprawnie sformułowane i uzasadnione.

O ile problemy i pytania badawcze zostały przedstawione bardzo klarownie, o tyle pozostaje niedosyt dotyczący przewidywań badaczki co do uzyskiwanych wyników czy sformułowanych hipotez. Tych *de facto* nie ma. To pozwala na sformułowanie zarzutu, że badanie jest obciążone błędem typowego badania eksploracyjnego (zobaczmy, co się stanie). Wiem z lektury rozprawy, że: a/ istniały podstawy teoretyczne dla sformułowania hipotez i b/ Doktorantka świetnie je знаła i była w stanie kierunkowo przewidywania sformułować. Na tle całej rozprawy rozdział nr 5 (pół strony) pozostawia duży niedosyt. Warto przypomnieć w tym miejscu, że celem badania nie może być “zbadanie”. Owo “zbadanie” służy ustaleniu faktu naukowego, wyrażonego/opisanego na poziomie języka teoretycznego, właściwego dla danej dyscypliny.

5. Plan badań, w tym metody (ilościowe, jakościowe, eksperymentalne, kwestionariuszowe, kliniczne, mieszane, inne) i grupa zostały właściwie dobrane do rozwiązania postawionego problemu, to znaczy projekt został zaplanowany zgodnie z regułami sztuki w sposób umożliwiający rozwiązanie problemu.

Komentowanie przeze mnie metod ściśle neurobiologicznych oznaczałoby przekroczenie granic kompetencji/niekompetencji. Te elementy oceny muszę pozostawić biegłym w temacie, ograniczę się więc do ogólnego planu eksperymentów oraz testów behawioralnych.

Plan badań zaprezentowano dość lakonicznie. Rozdział nr 6 Materiały i Metody zaczyna się od opisu wykorzystanych zwierząt, przy czym nie znalazłem informacji o tym, ile zwierząt w projekcie ostatecznie wykorzystano. W zasadzie ogólnego planu badań nie przedstawiono w ogóle. Szczególnie brakowało wg mnie jasnego opisu drogi, jaką przechodziły zwierzęta od momentu przybycia do laboratorium do momentu uśmiercenia w celu pobrania tkanek. W rozmaitych miejscach rozprawy można znaleźć poszczególne informacje (choć liczby i wieku zwierząt w poszczególnych etapach prac nie znalazłem), ale ich połączenie wymaga wysiłku. Gdyby chcieć zaznaczyć na osi czasu drogę szczura:

Przybycie -- > Zabiegi habituacyjne -- > Operacje -- > Testy beh. -- > Uśmiercenie do lab.

----- tygodnie życia szczura? ----- >

to na podstawie tekstu rozprawy miałbym z tym sporo kłopotu. To kolejna prośba do Doktorantki, aby w trakcie obrony lub autoreferatu wyklarowała to zagadnienie. Podsumowując ten wątek, muszę stwierdzić, że gdyby oceniać sposób opisu badań wedle kryterium, czy na

jego podstawie można by odtworzyć przebieg doświadczenia, to opis ten nie spełnia tego zadania. Jest w nim wiele fragmentów zawierających ukryte *know how*, niedostępne dla czytelnika spoza wąskiego kręgu wtajemniczonych.

Opis samych testów behawioralnych jest dość czytelny, choć również bardzo lakoniczny. Z powodu moich własnych zainteresowań zgłaszam kilka uwag do tzw. testu eksploracji. Uwaga pierwsza dotyczy parametrów fizycznych stosowanego światła. Sporo kontrowersji powstało na tle tego, czy i w jakim zakresie szczury reagują na światło określonej częstotliwości i intensywności. Wydaje się, że generalnie całe pokolenia badaczy nie doceniały tej modalności sensorycznej u szczurów. Badania wykorzystujące bodźce świetlne powinny być dobrze skalibrowane pod kątem wykorzystanych szczepów (np. pigmentacja vs albinotyczność) ze względu na specyficzne cechy siatkówki tych zwierząt. Istnieje bowiem możliwość, że światło nie stanowiło bodźca zagrażającego w rozumieniu kodowania emocyjnego, ale było silnie awersyjne ze względu na funkcjonowanie siatkówki tych szczurów. Nie znam dokładnie użytego szczepu szczurów, ale z pewnością mogę powiedzieć, że 635 lx to nie mało. Kolejnym elementem wzbudzającym moje wątpliwości jest liczba, a raczej brak, sesji habituacyjnych. O ile bowiem szczurom zapewniono habituację związaną z dotykiem eksperymentatora (14 sesji habituacyjnych), o tyle test eksploracji był przeprowadzony jednorazowo bez wstępnych sesji habituacyjnych. Myślę więc, że aktywność szczurów w tym teście niewiele miała wspólnego z eksploracją. Właściwym narzędziem teoretycznym do opisu i analizy zachowania się szczurów w tej klatce jest szacowanie ryzyka lub reaktywność emocjonalna. Gdyby na samym wstępie tak ustawić ten pomiar, to w dalszej części byłoby łatwiej dyskutować wyniki i cytować właściwą literaturę.

6. Zastosowane analizy statystyczne – jeśli są w rozprawie obecne – są zgodne ze standardami w danym obszarze, a ich wyniki zostały poprawnie zinterpretowane.

W pracy wykorzystano zupełnie podstawowe testy statystyczne (ANOVA oraz T-test). Oszacowanie poprawności i stosowania jest prawie niemożliwe ze względu na ubóstwo informacji zawartych w rozprawie. Brak liczebności szczurów uniemożliwia weryfikację *df*, ten zaś element jest kluczowy dla weryfikacji przyjętego schematu badania. Przykład ze strony 68:

po teście społecznego transferu strachu demonstratorzy z grup OXY, OTA i CTRL zostali poddani testowi eksploracji nowego środowiska (opisanego w podrozdziale 7.3, zob. **Ryc. 10A**). Następnie analizowano średni czas trwania zachowań opisanych w **Tab. 2** w rozdziale Materiały i Metody. Zaobserwowano różnice w czasie trwania eksploracji poziomej i unikania, wyrażonych jako procent wszystkich zachowań w teście. Dwuczynnikowa analiza wariancji wykazała istotność czynnika grupy: $F(1,13)=4,90$, $p=0,0454$. Test post hoc najmniejszych istotnych różnic (NIR) Fishera wykazał różnicę w poziomej eksploracji aparatu pomiędzy grupami OTA i OXY ($p=0,0047$) oraz w unikaniu (definiowanym jako pozostawanie za ścianką schronienia) pomiędzy grupami OTA i OXY ($p=0,0005$), zob. **Ryc. 14**.

Odnoszę wrażenie z opisu przeprowadzonej analizy, że df y nie zgadzają się z opisanym schematem ANOVA. Lektura ryciny 14 pozwala wyciągnąć wniosek, że do analizy włączono szczury trzech grup: OTA d ($n=8$), CTRL d ($n=7$) oraz OXY d ($n=4$), co daje nam 19 zwierząt. Skąd zatem wewnątrzgrupowy $df=13$? Ponadto, jeśli grupy były trzy, to między grupowy $df=2$. Chyba, że opis zupełnie nie odzwierciedla rzeczywistego układu ANOVA. Podobne wrażenie miałem przy opisie wielu analiz. Zupełnie brak informacji, czy jakoś weryfikowano dane ze względu na wymagania ANOVA. Brak takiej weryfikacji, przy małych liczebnościach badanych grup, naraża badacza na duże ryzyko błędu I rodzaju, tj. wykrycia nieistniejącej zależności. Przyjmuję do wiadomości, że głównym czynnikiem zmniejszającym to ryzyko jest doświadczenie zespołu i wcześniej nagromadzone dane, ale muszę stwierdzić, że rozprawa nie pozwala na przeprowadzenie analiz sprawdzających. Np. dołączenie tabel zawierających statystyki opisowe pozwoliłoby na wsteczne wyliczenie ANOVA i choćby częściowe zweryfikowanie wyników. Uderzające jest także, w świetle współczesnych standardów opisu analiz, całkowite pominięcie w analizach kwestii siły stwierdzanych efektów.

7. Dyskusja wyników prezentuje uzyskane rezultaty w szerszym kontekście teoretycznym i Empirycznym.

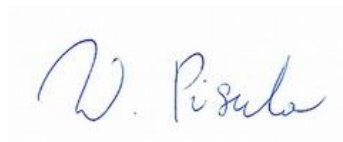
Dyskusję czyta się bardzo dobrze. Jest ona związana ściśle z uzyskanymi wynikami i zawiera ciekawą analizę otrzymanych wyników w kontekście danych uzyskiwanych przez innych badaczy. Oczywiście, ze względu na swoje zainteresowania odczuwam niedosyt w związku z zamiennym (nieuprawnionym) używaniem pojęcia eksploracji oraz szacowania ryzyka. W kontekście badań zaprezentowanych w rozprawie, słowo “eksploracja” jest używane w potocznym znaczeniu, tj. zmieści się w nim każde przemierzanie przestrzeni. Gdyby pozostać przy szacowaniu ryzyka, dyskusja byłaby spójniejsza i pełniejsza. Niemniej, to dobra i ciekawa część rozprawy.

8. Rozprawa zawiera informacje na temat ograniczeń i słabych stron projektu badawczego oraz refleksję nad ich potencjalnym wpływem na jakość uzyskanych rezultatów i wartość wniosków.

Niestety, tego rodzaju refleksji zabrakło w rozprawie. A szkoda, gdyż wskazanie ewentualnych słabości jest zwykle wskazówką wprost, co należy uwzględnić, planując kolejne badania. Ten mankament rozprawy wiąże się pośrednio z brakiem klarownych hipotez. Gdy nie ma hipotez, każdy wynik jest dobry. Żaden rezultat nie może być sklasyfikowany jako zgodny lub niezgodny z przewidywaniami. Co za tym idzie, nie pojawia się motywacja do zinterpretowania braku wystąpienia jakiegoś oczekiwanego efektu. Tak więc, ten deficyt nie powinien być traktowany jako samodzielny, ale jako element warsztatu badacza pozwalający na ciągłe doskonalenie swojej pracy badawczej.

Wnioski końcowe

Rozprawa mgr Karoliny Andraki jest dziełem zwięzłym. W moim przekonaniu wprowadzenie dodatkowych kilku lub kilkunastu stron opisów mogłoby bez straty zwięzłości przekazu być ważnym elementem pozwalającym uniknąć szeregu moich uwag krytycznych. Doktorantka wykazała, że zna literaturę przedmiotu i rozumie ją. Cytuje literaturę właściwie i refleksyjnie. W swojej ocenie rozprawy podniosłem kilka istotnych wg mnie problemów, które wymagają namysłu i przedyskutowania. Publiczna obrona rozprawy doktorskiej może i powinna stworzyć warunki dla takiej debaty. Mam jasność, że sytuacja obrony stwarza oczywiste ograniczenia prowadzenia debaty, liczę jednak, że wskazane przeze mnie kwestie zostaną przez Doktorantkę przeanalizowane i przedyskutowane. Stwierdzam, że rozprawa doktorska spełnia warunki określone w art 187 Ustawy z dnia 20 lipca 2018. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce, oraz załącznika nr 1 Regulaminu Rady Naukowej z 13.04.2018. Tak więc, mając nadzieję na wartościową i wzbogacającą dla wszystkich uczestników dyskusję, wnoszę do Rady Naukowej IBD o dopuszczenie rozprawy doktorskiej mgr Karoliny Andraki do publicznej obrony.



/Wojciech Pisula/