

Recenzent: Prof. dr hab. Jan Konopacki

Recenzja sporządzona dnia: 20. 01. 2025 r.

Recenzja

rozprawy doktorskiej Pana mgr Jacka Wróbla pt.:

„Mechanisms and modulation of NMDAR-dependent high-frequency oscillations in the rat olfactory bulb”

wykonanej w Laboratorium Neuroinformatyki

Instytutu Biologii Doświadczalnej PAN

pod kierunkiem

dr hab. Marka J. Hunt'a

1. Uwagi ogólne.

Ketamina to szybko działający związek znieczulający, który wprowadzony został do leczenia jako środek anestetyczny w latach 60. XX wieku. Wykorzystywana jest w anestezjologii do znieczulenia złożonego oraz rzadko jako samodzielny lek anestetyczny. Wywołuje specyficzny rodzaj narkozy zwany „narkozą dysocjacyjną” lub „anestezją zdysocjowaną”. Polega ona na selektywnym hamowaniu niektórych struktur ośrodkowego układu nerwowego (utrata przytomności) z pobudzeniem innych (katalepsja, ruchy gałek ocznych, halucynacje). Stosowana w dawkach sub-anestetycznych ma szerokie zastosowanie w leczeniu różnych dysfunkcji w tym m. in. depresji czy zespołu stresu pourazowego. W roku 2020 ketamina została zatwierdzona przez WHO jako lek w terapii opornego bólu neuropatycznego. Chociaż farmakologiczne działanie ketaminy i drugiego, bardziej selektywnego zastosowanego w pracy związku, dizocilpiny (MK 801), polega głównie na antagonizmie receptora NMDA, szereg badań wskazuje, że spektrum farmakologiczne mechanizmu działania obu antagonistów obejmuje wiele receptorów, a w przypadku ketaminy na pewno receptory opioidowe, adrenergiczne, serotonergiczne oraz muskarynowe receptory cholinergiczne.

Prawie 20 lat temu wykazano, że ketamina oraz inne związki antagonistyczne receptora NMDA wzmagają moc szybkich oscylacji (HFO) rejestrowanych w paśmie 150-200 Hz. Ostatnie badania pozwoliły na zidentyfikowanie opuszki węchowej (OB) jako głównego źródła epizodów HFO wzmacnianych antagonistami receptora NMDA.

Przedstawiona mi do recenzji rozprawa doktorska mgr Jacka Wróbla omawia wyniki eksperymentów, które stanowią bardzo wartościową kontynuację wcześniejszych badań dotyczących opuszki węchowej jako generatora HFO. Poświęcona jest ogólnie roli tej struktury w generowaniu szybkich oscylacji (130 -180 Hz) ze szczególnym uwzględnieniem jej połączeń aferentnych i eferentnych z głównym obszarem projekcyjnym, korą gruszkowatą (PC).

2. Charakterystyka rozprawy.

Rozprawa ma niestandardową strukturę. Napisana jest w języku angielskim i stanowi w zasadzie obszerne omówienie 6 prac, z których cztery zostały opublikowane w latach 2020-2024. Łączny wskaźnik oddziaływania (IF) pism, w których opublikowane zostały cztery prace wynosi ponad 13. Autor zamieścił również bardzo dobrze zredagowane streszczenia - w języku polskim i angielskim oraz spis stosowanych skrótów. Całość jest bardzo starannie wykonana pod względem edytorskim i dobrze zredagowana. Język angielski jest bez zarzutu. Piszący recenzję miał ułatwione zadanie. Badania przedstawione w rozprawie zostały bowiem wcześniej krytycznie ocenione przez kilku recenzentów.

Wstęp, w którym autor omawia kolejno klasyfikacje receptora glutaminergicznego, charakteryzuje ketaminę pod kątem farmakologicznym i efektów fizjologicznych, dokonuje charakterystyki szybkich oscylacji oraz roli receptora NMDA w ich generowaniu kończy podrozdział, w którym doktorant definiuje główne cele badań. Głównymi zadaniami, realizowanymi konsekwentnie w toku zaplanowanych doświadczeń było:

- zbadanie wpływu prezentacji zapachów i wzrostu ciśnienia przepływu powietrza przez nozdrza na moc badanych oscylacji,
- ocena czy OB może wpływać na generowanie HFO w PC,
- ocena roli receptora dopaminergicznego w generowaniu NMDA-zależnych HFO w OB.

Postawione zadania były realizowane w 9 starannie zaplanowanych i syntetycznie opisanych układach eksperymentalnych.

Nadzwyczaj interesujące są uzyskane przez doktoranta wyniki. Okazuje się, że to nie rodzaj zapachów wpływa na rejestrowane HFO a zwiększone ciśnienie przepływającego

powietrza przez nozdrza. Zwiększone ciśnienie powietrza wywołuje zwiększenie mocy oscylacji rejestrowanych w OB u szczurów poddanych wcześniej działaniu środka sedatywnego.

W innym cyklu eksperymentalnym, przeprowadzonym już na swobodnie poruszających się zwierzętach, mgr Jacek Wróbel wykazał, że blokada nozdrzy skutkuje zmniejszeniem mocy HFO nie tylko w OB, ale również w korze przedczołowej i brzusznej części prążkowiec, a przyśpieszone wężenie zwiększa moc badanych oscylacji w OB.

W następnych eksperymentach doktorant przeanalizował HFO w korze gruszkowatej, która stanowi główny obszar projekcji z OB. Okazuje się, że odwracalne zahamowanie aktywności OB muscimolem czy TTX prowadzi do zaniku nasilonych HFO w opuszce, jak i w korze gruszkowatej. Podobna blokada PC nie wywołuje zmian HFO w opuszce węchowej. Jak słusznie podkreśla autor w części dyskusyjnej, wynik ten wskazuje, że OB jest nadrzędnym generatorem nasilonych HFO, a rytm występujący w korze gruszkowatej zależy od aktywności głównego generatora w OB, który jest główną stacją przekaźnikową szlaku węchowego.

Osobny, bardzo interesujący cykl badań, poświęcony był roli receptorów dopaminergicznych w modulowaniu generowanych NMDA-zależnych HFO w OB. Finansowany był z projektu NCN, Preludium, przyznanemu doktorantowi. Zastosowano nieselektywne dopaminergiczne związki agonistyczne, amfetaminę i apomorfina oraz selektywne w stosunku do receptora D1R i D2R odpowiednio SKF 38393 oraz quinpirol. Część otrzymanych przez doktoranta wyników wskazywałaby, że generowanie nasilonych HFO jest niezależne od dopaminy. Jednak w kolejnych doświadczeniach okazało się, że egzogenna stymulacja D2R redukuje moc i częstość tych oscylacji.

Dyskusja jest ciekawa i wielowątkowa. Wyniki przedstawione w tej rozprawie skłaniają autora do sformułowania bardziej ogólnych refleksji, które zresztą w pełni podzielam. Przeprowadzone badania bez wątplenia wskazują na krytyczną rolę opuszki węchowej i oddychania nosowego w procesie powstawania HFO po podaniach antagonistycznych związków receptora NMDA. W szczególności ketamina, wywołuje efekty neuropsychiatryczne, których substrat neuronalny nie jest do końca jasny. Opuszka jako główny generator HFO jest kluczowym obszarem mózgu, na który oddziałują antagonistyczne związki receptora NMDA.

Moją uwagę zwróciły dwa przedostatnie podrozdziały dyskusji, których praktycznie nie znajdujemy w rozprawach doktorskich. W jednym z nich mgr Jacek Wróbel zwraca uwagę na pewne ograniczenia i słabsze strony przeprowadzonych doświadczeń natomiast

w kolejnej nawiązuje do klinicznych aspektów dotyczących HFO i zarysowuje możliwe kierunki przyszłych badań. Oba podrozdziały świadczą o dużej naukowej dojrzałości doktoranta, koniecznym dystansie i krytycyzmie. To bardzo wartościowe i godne odnotowania walory młodego pracownika naukowego.

3. Uwagi i pytania

1. Na str. 46 jest zdanie (cyt.): *“To investigate the influence of the PC on the activity of the OB, I reversibly inhibited the PC using muscimol or sodium channel blocker TTX.* Ilustracją tego zdania jest ryc. 4.8. Rycina ta nie wskazuje jednak aby efekt muscimolu czy TTX był odwracalny. Przeciwnie, tłumiący wpływ obu zastosowanych związków jest widoczny przez okres pokazany na rycinie, to jest do 10 min (6000 s) (?).

2. Badania doktoranta wykazały, że OB jest głównym generatorem HFO. Zważywszy dużo mniejszą moc rejestrowanego sygnału w PC niż w OB, oscylacje rejestrowane w głównym obszarze projekcji z OB wydają się mieć charakter podrzędny. Uzyskany wynik wskazywałby, że rejestrowany w PC sygnał jest transmitowany od głównego generatora zlokalizowanego w OB specyficznymi drogami nerwowymi. Jak słusznie zauważa doktorant, nie można jednak wykluczyć znacznej komponenty związanej z przewodnictwem objętościowym. Taka sugestia pojawia się po analizie wyników uzyskanych po infuzji np. muscimolu: okazuje się, że podanie tego selektywnego agonisty receptora GABA-A powoduje natychmiastowy i równoległy efekt tłumiący moc sygnałów rejestrowanych w OB i PC. Podobny, lecz bardziej nasilony efekt obserwowano również po podaniu TTX do OB. Problem ten adresowany jest w dyskusji (akapit 3, str. 62) ale odnoszę wrażenie, że rozważania autora nie zostały dokończone. Innymi słowy, nie jest dla mnie jasne czy autor dopuszcza wpływ przewodnictwa objętościowego na aktywność rejestrowaną w PC czy też nie.

3. Wyniki dotyczące roli dopaminy nie są jednoznaczne. W związku z powyższym, zastanawiam się, czy wniosek autora nr 3 dotyczący roli dopaminy nie jest przedwczesny (?).

4. W pracy często pojawia się fraza: ja zrobiłem, ja wykonałem, ja badałem itp. Namawiam doktoranta aby w przyszłości używał jednak formy: my zrobiliśmy, my wykonaliśmy lub formę bezosobową: wykonano, zrobiono.

3. Podsumowanie

Przedstawioną mi do recenzji rozprawę doktorską mgr Jacka Wróbla oceniam bardzo wysoko. Wskazuje ona, że doktorant jest znakomicie przygotowany zarówno pod względem teoretycznym jak i praktycznym do samodzielnej pracy naukowej. Duża

erudycja autora sprawiła, że wielowątkowe i trudne badania zostały opisane w sposób klarowny merytorycznie i poprawnym językiem angielskim.

Recenzowana praca stanowi bardzo dobrze przygotowane opracowanie wcześniejszych publikacji i przedstawia oryginalne rozwiązanie istotnego problemu naukowego. Zastosowane w cyklu badawczym metody są adekwatne do postawionych celów naukowych. Autor wykazał się doskonałą znajomością literatury. Cytowane w pracy ponad 240 pozycji piśmiennictwa zostało starannie przez doktoranta wyselekcjonowane. Ponad 25% cytowanych artykułów ukazało się w ostatnich 5 latach.

Uważam, że recenzowana rozprawa w pełni spełnia warunki określone w art. 187 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2023 r. poz. 742 z późn. zm.). Na tej podstawie przedkładam Wysokiej Radzie Naukowej Instytutu Biologii Doświadczalnej im. M Nenckiego PAN w Warszawie wniosek o dopuszczenie mgr Jacka Wróbla do dalszych etapów postępowania w sprawie nadania stopnia doktora.

Duża wartość naukowa rozprawy oraz fakt, że przedstawione w niej badania zostały wcześniej opublikowane, lub są w trakcie publikacji, upoważnia mnie dodatkowo do wystąpienia z wnioskiem o stosowne jej wyróżnienie.

Łódź, dnia 20.01. 2025 r.



Prof. dr hab. Jan Konopacki

dr hab. Jolanta Orzeł-Gryglewska, prof. UG
Katedra Fizjologii Zwierząt i Człowieka
Wydział Biologii
Uniwersytet Gdański
ul. Wita Stwosza 59, 80-308, Gdańsk
jolanta.orzel-gryglewska@ug.edu.pl

**Recenzja rozprawy doktorskiej pana mgr. Jacka Wróbla
pt. „Mechanisms and modulation of NMDAR-dependent
high-frequency oscillations in the rat olfactory bulb”,
wykonanej w Pracowni Neuroinformatyki
Instytutu Biologii Doświadczalnej im. Marcelego Nenckiego PAN,
pod kierunkiem Pana Promotora dr. hab. Marka Hunt, prof. Instytutu**

Antagoniści receptora NMDA, w szczególności ketamina, są obiektem wzmożonego zainteresowania w badaniach klinicznych ze względu na swoje zastosowania, zwłaszcza w leczeniu depresji, chociaż ich dokładne mechanizmy działania oraz sieci neuronowe, na które oddziałuje ta klasa związków, są tylko częściowo poznane. Jednocześnie substancje te wykorzystywane są w badaniach przedklinicznych w celu modelowania stanów podobnych do stanów psychotycznych. Cechą charakterystyczną tych związków jest nasilenie mocy wysokoczęstotliwościowych oscylacji (HFO) lokalnych potencjałów polowych, które można zarejestrować w wielu obszarach mózgu u różnych gatunków zwierząt. Ostatnio stwierdzono, że głównym źródłem HFO nasilonych przez antagonistów receptora NMDA jest opuszka węchowa (OB). Najważniejsze połączenia eferentne OB są skierowane do kory gruszkowatej (PC), która wysyła wzajemne projekcje z powrotem do OB, modulując w ten sposób aktywność neuronalną. Dotąd nie zostało stwierdzone, czy zależne od NMDA-R HFO można zarejestrować również w PC i w jaki sposób odnoszą się one do analogicznych HFO w OB.

Dopamina (DA) jest jednym z kluczowych neuroprzekaźników w procesie przetwarzania informacji węchowej w OB, ponadto DA działa częściowo poprzez receptor D2 zlokalizowany na terminalach nerwów/nici węchowych, które poprzez transmisję glutaminianergiczną aktywują neurony OB. Jak dotąd nie było jednak doniesień o potencjalnej roli DA w generowaniu HFO zależnych od NMDA-R. Biorąc pod uwagę te przesłanki Doktorant podjął się analizy HFO zależnych od receptorów NMDA-R w opuszcze węchowej, ze szczególnym uwzględnieniem ich zależności od projekcji aferentnych i eferentnych, a także wpływu aktywności receptorów DA na te oscylacje.

Celem podjętych przez Autora badań, było 1/ zbadanie roli bodźca „nosowego” w generowaniu HFO zależnych od receptorów NMDA poprzez analizę rytmu oddychania, prezentację zapachów i zmiany ciśnienia powietrza w przewodach nosowych; 2/ zbadanie związku między HFO zależnymi od receptorów NMDA w OB i korze gruszkowatej (PC) oraz ustalenie, czy hamowanie aktywności OB wpływa na ten rytm w PC; 3/ zbadanie wpływu dopaminy na HFO rejestrowane w OB, poprzez ogólnoustrojowe i miejscowe podawanie agonistów i antagonistów receptorów D1/D2. Przesłanki do podjęcia powyższych badań oparte są na podstawowej potrzebie wyjaśnienia elementów podłoża i mechanizmu HFO zależnych od aktywności receptorów NMDA. Doktorant postanowił pokazać znaczenie OB i rytmu oddychania nosowego w generowaniu HFO po antagonistach NMDA-R w obrębie OB i PC, ponieważ sieci węchowe są często pomijane w badaniach psychofarmakologicznych, a mogą być potencjalnie ważnym miejscem działania związków psychoaktywnych. Brakuje więc badań ukierunkowanych na zrozumienie funkcjonalnego znaczenia HFO po antagonistach receptorów NMDA generowanych w obszarze OB dla dziedziny neuropsychiatrycznej, a potencjalne wyniki takich badań w przyszłości mogłyby zainspirować nowe kierunki terapii zaburzeń psychotycznych.

Ocena układu rozprawy doktorskiej, w tym informacje o jej poszczególnych częściach składowych

Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska została przygotowana w języku angielskim w formie spójnego tematycznie opracowania. Liczy ona 100 stron i została opatrzona 20 rycinami i 5 tabelami. Tekst rozprawy podzielony został na klasyczne części. Pracę poprzedza streszczenie, wykaz stosowanych skrótów i spis treści. Główny tekst rozpoczyna się 20-stronicowym wstępem. W tej części pracy Doktorant charakteryzuje psychofarmakologię antagonistów receptorów NMDA ze szczególnym uwzględnieniem działania ketaminy, po czym dokładnie opisuje elektrofizjologię lokalnych potencjałów polowych związanych z funkcjonowaniem receptorów NMDA w różnych strukturach mózgu, a zwłaszcza w opuszce węchowej. Autor wyjaśnia także, że blokada tych receptorów związana jest z wysokoczęstotliwymi oscylacjami (HFO) generowanymi w wielu obszarach mózgu. Następnie mgr Wróbel przedstawia neuronalną budowę opuszki węchowej oraz omawia jej aferentne i eferentne połączenia z innymi strukturami mózgowia. Ta teoretyczna część rozprawy napisana jest obszernie i wyczerpująco, Autor sprawnie przedstawia i omawia kolejne zagadnienia, **prezentując swoją ogólną wiedzę teoretyczną** i przygotowując czytelnika do wyprowadzenia celu pracy, który został sformułowany w następnym rozdziale, po uzasadnieniu potrzeby podjęcia badań na ten temat. Ta część pracy jest źródłem wiedzy niezbędnej do zrozumienia istoty problemu badawczego oraz dobrze uzasadnia wybór tematyki badawczej. Rozdział 3. rozprawy to przedstawienie stosowanych w eksperymentach metod i materiałów z czytelnym opisem procedur stereotaktycznych, doświadczalnych i histologicznych, komputerowego programu wykorzystanego do automatycznej analizy lokalnych potencjałów polowych oraz zastosowanych metod statystycznych. W kolejnej części pracy doktorant zaprezentował i omówił uzyskane wyniki, dzieląc je tematycznie zgodnie z wytyczonymi celami pracy oraz dodając podrozdział omawiający wstępne

dane, które mogą pokierować przyszłymi badaniami nad oscylacjami HFO związanymi z receptorem NMDA. Następny rozdział zawiera 10-stronicową dyskusję otrzymanych wyników, po której następuje podsumowanie i wnioski. Oryginalnym i ciekawym pomysłem jest zamieszczenie w „Dodatku A” tabelarycznego zestawienia, zawierającego ponad 3-stronicową analizę dostępnego piśmiennictwa na temat wyników badań HFO zależnych od receptorów NMDA w układzie substancja/dawka, badana struktura/gatunek oraz główne wyniki eksperymentów. Spis piśmiennictwa obejmuje 244 numerowane anglojęzyczne artykuły, zarówno pozycje klasyczne jak i najbardziej aktualne, odpowiednio dobrane do tematyki rozprawy (25% artykułów pochodzi z lat 2020-2025). Pracę kończy lista 6 publikacji doktoranta. Warto podkreślić, że jest on pierwszym lub drugim autorem wszystkich przedstawionych artykułów, zamieszczonych w cenionych czasopismach. Układ całej pracy jest logiczny, a jej treść w jasny sposób przedstawia badane zagadnienie.

Wskazanie i ocena zastosowanych metod badawczych

Do realizacji zadań badawczych Pan Jacek Wróbel zastosował szereg adekwatnych i zróżnicowanych metod. Do doświadczeń użył 88 dorosłych, młodych samców szczurów, które zostały poddane zabiegom stereotaktycznym implantacji domózgowych elektrod rejestracyjnych, kaniul oraz czujników oddychania (termopary). Podczas eksperymentów Doktorant rejestrował lokalne potencjały polowe (LFP) z opuszki węchowej (OB) i wybranych struktur OUN oraz aktywność lokomotoryczną zwierząt. Procedury doświadczenia zostały ustawione w zestaw 12 układów doświadczalnych, obejmujących badanie efektu siły przepływu powietrza przez nozdrza w sedacji i warunkach naturalnych, prezentację bodźców zapachowych oraz efekty szeregu iniekcji antagonistów receptorów NMDA oraz agonistów i antagonistów receptorów dopaminergicznych, o przeciwpyschotycznym działaniu. Podsumowanie tych procedur znajduje się w bardzo pomysłowo skonstruowanej tabeli 3.2. W odniesieniu do tej części pracy chciałabym jednak wskazać pewną niekonsekwencję Autora w planowaniu doświadczeń i zapytać, dlaczego agoniści DA (quinpirol i SKF38393) byli podawani w osobnych iniekcjach i ich wpływ analizowano odrębnie, natomiast antagoniści DA (eticloprid i SCH23390) byli podani łącznie w jednej iniekcji?

Weryfikacja histologiczna obejmowała ustalenie lokalizacji końcówek zaimplantowanych kaniul i elektrod, a analiza sygnału LFP i termopar została przeprowadzona przy użyciu programów Spike 2 i Python. Autor wyznaczył moc maksymalną i odpowiadającą jej częstotliwość oraz moc w pasmach i poddał je prawidłowo przeprowadzonej analizie statystycznej. Podsumowując, Doktorant w przemyślany sposób postawił pytania badawcze, zaplanował szereg eksperymentów, sprawnie posłużył się dobrze opanowanym warsztatem elektrofizjologicznym, pozyskał stosowny materiał doświadczalny, dokonał odpowiedniej analizy sygnału LFP oraz przeprowadził właściwą ocenę funkcjonalną i statystyczną, co należy uznać za **oryginalne rozwiązanie postawionego zadania naukowego.**

Ocena części rozprawy dotyczącej omówienia wyników badań

Rozdział **Wyniki** to obszerne opracowanie danych otrzymanych w efekcie przeprowadzonych eksperymentów. Składa się z 27 stron tekstu i jest ilustrowany tabelą oraz 15 starannie wykonanymi, wielopanelowymi rycinami, wykonanymi zgodnie ze sposobem przedstawiania wyników w artykułach w wiodących czasopismach naukowych. Ryciny są wyraziste i kompleksowe, niestety nagromadzenie tak dużej ilości danych na powierzchni strony utrudnia czytelnikowi analizę szczegółów poszczególnych paneli. Natomiast pozytywną stroną takich rycin jest przedstawienie w jednym miejscu całości wyników z danej serii doświadczeń. Ciąg eksperymentów został zaplanowany logicznie, z jasno postawionym celem. Główne wyniki otrzymane przez Doktoranta to:

1/ Wykazanie, że moc HFO ulega zanikowi w opuszcze węchowej po zablokowaniu przepływu powietrza przez nozdrza szczura w stanie sedacji ketaminowo-ksylazynowej oraz wykazanie, że to zwiększone ciśnienie w nozdrzach, a nie zapachy napędzają badany rytm, zwiększając jego moc. Wszystkie następne eksperymenty, przeprowadzone na swobodnie poruszających się szczurach, dowiodły, że blokada nozdrzy skutkuje zanikiem mocy nasilonych HFO nie tylko w opuszcze węchowej, ale również w korze przedczołowej i brzusznej części prążkowiec, a przyspieszenie aktywuje badany rytm w opuszcze.

2/ Wykazanie, że odwracalne zahamowanie aktywności opuszki węchowej prowadzi do zaniku nasilonych HFO lokalnie w opuszcze, jak i w korze gruszkowatej. Autor nie stwierdził zależności odwrotnej, co sugeruje, że opuszka jest głównym generatorem nasilonych HFO, a rytm ten występujący w korze gruszkowatej, zależy od aktywności głównego generatora znajdującego się w opuszcze węchowej.

3/ Wykazanie, że generacja nasilonych HFO jest niezależna od endogennej dopaminy, pomimo jej kluczowej roli w procesowaniu informacji węchowej w OB, jednak egzogenna stymulacja receptorów D2 redukuje moc i częstość tego rytmu.

W **Dyskusji** mgr Wróbel przeprowadził dokładną analizę wyników uzyskanych w poszczególnych doświadczeniach, przytaczając przy ich omawianiu rezultaty otrzymane przez innych badaczy. Rozdział ten świadczy o dojrzałości naukowej Doktoranta i gruntownej znajomości podjętej tematyki badawczej. Na podstawie uzyskanych wyników Autor sformułował stosowne wnioski, prowadzące do generalnej konkluzji, że jego praca podkreśla krytyczną rolę OB i rytmu oddychania nosowego w nasileniu generowania HFO po antagonistach NMDA-R w opuszcze węchowej, a także w strukturalnie i funkcjonalnie odrębnych obszarach mózgu. Otrzymane wyniki wskazują na znaczenie sieci węchowych, jako potencjalnie ważnych miejsc działania związków o działaniu psychotycznym. Przyszłe badania powinny być ukierunkowane na zrozumienie funkcjonalnego znaczenia tego rytmu dla dziedziny neuropsychiatrycznej.

Po przeczytaniu pracy nasuwają mi się pytania, na które, w świetle otrzymanych wyników, odpowiedź będzie raczej spekulacją niż wnioskiem, natomiast ciekawa jestem poglądu Doktoranta na następujące kwestie:

Czy u człowieka dowolne przyspieszenie oddechu spowodowałoby wzrost mocy HFO po ketaminie? Czy byłoby to związane ze zwiększeniem objawów psychotycznych?

Czy neuromodulacja, polegająca na stymulacji elektrycznej OB podczas epizodów psychotycznych, mogłaby wpłynąć łagodząco na objawy psychiczne i behawioralne?

Ocena umiejętności samodzielnego prowadzenia pracy naukowej przez doktoranta

Jasność i klarowność opisu metod i wyników wyraźnie wskazuje, że doktorant doskonale porusza się w badanym zagadnieniu i opanował wszystkie procedury stosowane w jego eksperymentach, które są dobrze zaplanowane, właściwie wykonane i prawidłowo przeanalizowane. To samo dotyczy analizy piśmiennictwa i doboru argumentów uzasadniających tok myślenia i wywodzenie wniosków w częściach teoretycznych pracy. Wprowadzenie przez Autora tabel porządkujących tak obszerny materiał badawczy i piśmiennictwo (tabela 3.2. oraz Dodatek A) to kolejny dowód na szczególne umiejętności jasnego prezentowania wyników swojej pracy. Pan mgr Wróbel jest dobrze przygotowany do **samodzielnego prowadzenia pracy naukowej** zgodnie z zasadami jej poprawnego wykonywania.

Rozprawa jest napisana i zredagowana bardzo starannie, jedyne uwagi dotyczące edycji odnoszą się do braku wyjaśnienia skrótu APD (w tab. 3.2.) oraz nielicznych niekonsekwencji i drobnych uchybień w formatowaniu spisu piśmiennictwa.

Wniosek końcowy

Wszystkie te powyższe spostrzeżenia składają się na ostateczną wysoką ocenę pracy doktorskiej pana mgr Jacka Wróbla. Przedstawiona rozprawa stanowi oryginalne rozwiązanie postawionego problemu badawczego a poprawnie i wyczerpująco napisana część teoretyczna oraz obszerna i wielowątkowa dyskusja potwierdzają ogólną wiedzę posiadaną przez Doktoranta. Pan mgr Wróbel posiada umiejętność właściwego planowania badań oraz wnikliwej i krytycznej oceny wyników. Badania przeprowadził stosując złożone metody pozyskiwania i analizy danych. Doktorant potwierdził, że potrafi zaplanować ścieżkę badawczą oraz skrupulatnie i samodzielnie realizować poszczególne jej etapy, a przedstawione badania prezentują wysoki poziom naukowy oraz wnoszą nowe i ważne wątki do wiedzy dotyczącej sposobu funkcjonowania opuszki węchowej w odpowiedzi na działające na nią związki farmakologiczne.

Stwierdzam, że przedłożona do oceny rozprawa doktorska pana mgr. Jacka Wróbla spełnia wymogi stawiane rozprawom na stopień naukowy doktora określone w artykule 187 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2023 r. poz. 742 z późn. zm.). Na tej podstawie wnioskuję do Rady Naukowej Instytutu Biologii Doświadczalnej o dopuszczenie mgr. Jacka Wróbla do dalszych etapów postępowania w sprawie nadania stopnia doktora.



Gdańsk, 14 lutego 2025 r



UNIwersytet Medyczny

IM. PIASTÓW ŚLĄSKICH WE WROCLAWIU

Katedra i Zakład Biofizyki i Neurobiologii
prof. dr hab. Jerzy Mozrzyński – Kierownik Jednostki

Sz. P.

Dyrektor Instytutu Biologii Doświadczalnej
Prof. dr Hab. Agnieszka Dobrzyń

Wasze pismo z dnia:

.....

Wasz znak:

.....

Nasz znak:

WL-40- /2024

Data:

26/3/2025

Recenzja rozprawy doktorskiej mgr Jacka Wróbla pt. „Mechanisms and modulation of NMDAR-dependent high-frequency oscillations in the rat olfactory bulb” pod kierunkiem dr hab. Marka Hunt’a.

Różne obszary w mózgu mogą generować zróżnicowane rytmy charakteryzujące się różnymi częstotliwościami, zasięgiem występowania i zaangażowaniem różnych typów neuronów będących elementami składowymi sieci neuronalnych. Rytmy te są ściśle powiązane z funkcjami fizjologicznymi i kognitywnymi poszczególnych elementów mózgowia przy czym część tych rytmów np. theta i gamma mogą występować jednocześnie. Bardzo intensywnie badany niskoczęstotliwościowy rytm theta jest związany z uczeniem się i zapamiętywaniem informacji dotyczących nawigacji i pamięci przestrzennej. Również bardzo szeroko badane rytmy gamma o wyższej częstotliwości, które są skorelowane z aktywnością dużych sieci neuronalnych, zaangażowanych w wyższe procesy kognitywne takie jak uwaga, proces tzw. scalania (binding) różnych atrybutów w jeden percept, aktywność pamięci roboczej i świadomość. Niestłuchana różnorodność funkcjonalna i anatomiczna neuronów (głównie hamujących) wchodzących w skład różnych elementów mózgowia manifestuje się między innymi właśnie poprzez różnorodność rytmów. Niektóre z rytmów są wręcz markerami poszczególnych stanów funkcjonalnych mózgu jak np. snu, zamierzonej aktywności ruchowej czy eksploracji nowego środowiska. Można powiedzieć, że ogromne zainteresowanie neurobiologów morfologią pojedynczych neuronów wraz z ich synapsami, oraz molekularnymi mechanizmami towarzyszącymi zjawiskom neuroplastyczności jest właśnie elementem składowym wielopoziomowych badań nad funkcjonowaniem sieci neuronalnych zaangażowanych w zjawiska kognitywne i inne funkcje fizjologiczne w powiązaniu z rytмами mózgowymi generowanymi w ośrodkowym układzie nerwowym.

Rozprawa doktorska mgr Jacka Wróbla wpisuje się właśnie w nurt badań nad oscylacjami mózgowymi w opuszce węchowej (OB) i innych obszarach, które są połączone z opuszką ważnymi projekcjami neuronalnymi. Szczególnym obiektem zainteresowania Doktoranta były wysokoczęstotliwościowe oscylacje (HFO) zależne od receptorów NMDA i wywoływane blokerami tych receptorów (w rozprawie głównie ketaminą i MK801). Model ten jest szczególnie interesujący ze względu na to, że w określonych stężeniach, ketamina wykazuje szybko-działające właściwości przeciwdepresyjne i przeciwłkowe, co coraz powszechniej jest wykorzystywane klinicznie. Co więcej, antagoniści receptorów NMDA mogą indukować stany psychotyczne oferując tym samym model tego rodzaju zaburzeń, na którego przydatność w badaniach psychiatrycznych zdaje się wskazywać obserwacja obniżonej ekspresji poszczególnych podjednostek receptora NMDA w mózgu pacjentów cierpiących na schizofrenię. Co szczególnie warto podkreślić, grupa badawcza kierowana przez dr hab. Marka Hunt'a wykazała w swoich niedawnych badaniach, że OB jest źródłem HFO zależnych od ketaminy (Hunt et al. 2019) i oceniana rozprawa doktorska bazuje właśnie na tych doświadczeniach. W rozdziale 2 Doktorant zwięźle precyzuje zamysł i cele badawcze niniejszej rozprawy. Doktorant postawił sobie jako pierwszy cel zbadanie dość intuicyjnej (lub wręcz oczekiwanej) współzależności pomiędzy HFS w opuszce i aktywnością nozdrzy w procesie oddychania. Podjęcie się tego zadania wymagało wdrożenia metodologii badawczej pozwalającej na pomiary funkcjonalne (elektrofizjologiczne) u swobodnie poruszających się zwierząt. Pomyślnie zastosowanie tego modelu oceniam jako ważne osiągnięcie metodologiczne Doktoranta i współpracującego z nim zespołu. Kolejne cele rozprawy to sprawdzenie czy OB może indukować HFS w korze gruszkowatej (PC), która pełni kluczową rolę w percepcji i analizie bodźców węchowych oraz jak HFS w OB są regulowane przez receptory dopaminowe. Określenie celu naukowego przez Doktoranta oceniam wysoko. Problem, którego się podjął wraz z promotorem był bardzo ambitny i logicznie wynikający z aktualnego stanu wiedzy oraz z dostępnych możliwości badawczych. Na szczególne podkreślenie zasługuje, jak wspominałem, wdrożenie badań elektrofizjologicznych na swobodnie poruszających się zwierzętach, u których na bieżąco dokonywano pomiaru potencjałów polowych w wybranych ośrodkach mózgowych jak również odpowiednimi kaniulami podawano, stosownie do aktualnych zadań, czynniki farmakologiczne. Co więcej przy pomocy układu termopar monitorowano aktywność oddechową pozwalając na określenie korelacji między tą aktywnością a HFO mierzonych w OB i w innych obszarach mózgowia. Pierwszy rozdział rozprawy to wstęp teoretyczny zaczynający się od psychofarmakologii antagonistów receptorów NMDA i roli niedoczynności tych receptorów w stanach psychotycznych. Prezentując dość szczegółowy opis właściwości receptorów NMDA należało dodać, że ich koagonistą może być nie tylko glicyna, ale też D-seryna. Sporo uwagi we wstępie Autor poświęca omówieniu mechanizmu oddziaływania ketaminy na receptor NMDA oraz na inne receptory i enzymy, które są potencjalnie istotne przy ocenie klinicznych efektów tego czynnika. Ta część wstępu jest, w mojej ocenie, napisana rzeczowo i jednocześnie zwięźle dostarczając czytelnikowi niezbędnych informacji

dotyczących mechanizmów działania tego czynnika. Nieco słabiej oceniam podrozdziały „Electrophysiology” oraz „Local field potentials”. Szczególnie ten pierwszy niewiele wnosi ani dla osób nie dysponujących podstawową wiedzą z elektrofizjologii ani dla doświadczonych elektrofizjologów. Pierwsze zdanie podrozdziału 1.2 nosi wręcz znamiona tautologii („Electrophysiology is the study of the electrical properties of cells, ...”). Wydaje mi się, że w doktoracie, którego podstawową metodą pomiarową jest właśnie pomiar potencjałów można było pokusić się o bardziej informatywne zaprezentowanie koncepcji tych pomiarów doprecyzowując szczegóły techniczne w rozdziale poświęconym metodologii. Nie znalazłem w opisie metodologii na str. 26 i 31 informacji jakiego typu elektrody użyto i od jakiego producenta ewentualnie jak je samemu fabrykowano. Ta informacja metodologiczna przydałaby się szczególnie ze względu na fakt zastosowania elektrod jedno i dwubiegunowych przy opisie HFO e OB. i korze gruszkowatej (PC, rozdz. 4.2.1). Wysoko natomiast oceniam rozdziały zawierające opis wysokoczęstotliwościowych oscylacji, ich zależność od receptorów NMDA i ich specyfikę w różnych rejonach mózgu (w szczególności wejścia i wyjścia z OB).

Doktorant rozpoczyna opis wyników od zaprezentowania danych dotyczących korelacji HFO w OB z funkcją oddechową. U zwierząt pod narkozą (Ket/Xyl) stwierdzono, że tylko w przypadku zastosowania wysokiego ciśnienia wzrastał sygnał HFO. Co ciekawe, zaprezentowanie zwierzętom różnych zapachów nie wpływało na moc HFO. Interesującym wynikiem jest stwierdzenie, że zaindukowanie HFO podaniem ketaminy wyzwała funkcję oddechową o szybszej częstotliwości niż w stanie spoczynku. Jak to wyjaśnia autor na str. 37 ta wyższa częstotliwość oddechowa (4-10 Hz) jest typowa dla aktywnego wachania przez zwierzę podczas eksploracji o czym świadczyła również pozytywna korelacja pomiędzy częstotliwością oddechową a aktywnością lokomotoryczną (LMA). Ponadto, zastosowanie antypsychotycznego haloperidolu indukującego katalepsję zniósło indukowaną przez ketaminę wzmoczoną aktywność oddechową. Bardzo czytelnie wyniki dotyczące korelacji między funkcją oddechową a potencjałami HFO mierzonymi z OB prezentuje rycina 4.4. Badania nad korelacją funkcji oddechowej a indukcją HFO poszerzono o analizę sytuacji gdy blokowano jedno z nozdrzy zwierzęcia mierząc potencjały polowe nie tylko w OB ale również w korze przedczołowej (PFC) i brzuszny prążkowiec (VS) i stwierdzono, że zablokowanie nozdrza skutkowało redukcją HFO nie tylko w OB, ale również w PFC i VS. Tą część eksperymentalną pracy oceniam wysoko gdyż dostarcza bardzo ważnych informacji odnośnie korelacji między indukcją HFO a aktywnością oddechową i ruchową badanych zwierząt poszerzając naszą wiedzę fizjologiczną na temat współwystępowania HFO i zmian w procesie oddechowym. Na podkreślenie zasługuje fakt, że wyniki te otrzymano na swobodnie poruszających zwierzętach, co stanowiło niemałe wyzwanie metodologiczne.

W kolejnych rozdziałach Autor skupia się na pomiarach elektrofizjologicznych z różnych obszarów. W podrozdziale 4.2.1 opisane są HFO z OB i PC wywołane blokerem receptorów NMDA MK801, który wybrano ze względu na stabilniejszą indukcję HFO niż w przypadku ketaminy. Ryc. 4.6

przedstawia te wyniki w sposób bardzo kompleksowy pokazując zarówno przebiegi czasowe mierzonych potencjałów jak korelacje, koherencje i komodulogramy, które w elegancki sposób pokazały współwystępowanie HFO i oscylacji niskoczęstotliwościowych w obecności MK801. Wyniki te w sposób bardzo przekonujący pokazują obecność HFO (skorelowanych z oscylacjami niskoczęstotliwościowymi) zarówno w OB jak i w PC przy czym oscylacje w tych strukturach wykazały ścisłą korelację. Jak już wspomniałem brakuje tutaj pełniejszego opisu dotyczącego metodologii pomiarów z zastosowaniem elektrod jedno i dwubiegunowych. Wyniki dotyczące sprzężenia funkcjonalnego między HFO w OB i PC zostały dodatkowo przejrzyście ukazane poprzez doświadczenia w których podano muscymol do OB i zaobserwowano niemal natychmiastowo dramatyczną redukcję oscylacji wywołanych MK801 zarówno w OB i PC. Brakuje w tym podrozdziale dość istotnych informacji metodologicznych: jakie było stężenie muscymolu ? Jak długo podawano tą substancję ? Po jakim czasie zaobserwowano wypłukanie efektu muscymolu ? Czy po odpowiednio długim czasie układ powracał do parametrów obserwowanych przed podaniem muscymolu ? Wątek interakcji między OB i PC był kontynuowany w doświadczeniach, w których zablokowano funkcję PC poprzez podanie albo muscymolu albo TTX (również o nieznanym stężeniu). Co ciekawe, o ile zarówno muscymol jak i TTX niemal natychmiastowo zablokowały HFS w PC, to nie miało to wpływu na HFO w OB.

W dalszej części swojej rozprawy Doktorant podejmuje zagadnienie modulacji HFO wywołanych MK801 przez receptory dopaminowe. Co warto podkreślić, jest to temat badawczy który został zaproponowany w ramach grantu NCN PRELUDIUM pozyskanego przez Doktoranta. Wybór tego zagadnienia jest uzasadniony ze względu na obecność dużej liczby projekcji dopaminergicznych w OB. Autor spodziewał się też, że doświadczenia te rzucą światło na mechanizm komórkowy i molekularny indukcji HFO pod wpływem blokerów NMDAR. Zastosowanie niespecyficznych (względem D1R i D2R) agonistów dopaminergicznych amfetaminy i apomorfiny wywołało interesujący efekt na HFO: istotne zmniejszenie częstotliwości HFO nie wpływając przy tym na moc widma. Co ciekawe, specyficzni agoniści D1R i D2R (odpowiednio SKF38393 i quinpirol) również nie mieli wpływu na moc widma, jednakże quinpirol istotnie obniżył częstotliwość HFO w przeciwieństwie do SKF38393. Ponadto, zablokowanie D1R i D2R przez odpowiednio SKF38393 eticlopride istotnie wpłynęło na aktywność lokomotoryczną.

Rozdział poświęcony wynikom kończy się podrozdziałem pt. „Exploratory investigations”, w którym Autor zamieszcza wyniki dotyczące efektów lokalnego zablokowania aktywności receptorów NMDA w OB oraz wybranych leków antypsychotycznych na HFO wywołane przez MK801. Na ryc. 4.14 pokazano, że w przypadku systemowej i lokalnej aplikacji MK801 uzyskano bardzo podobny wzrost w aktywności HFO choć Doktorant zauważył, że w przypadku lokalnej aplikacji MK801 można było zaobserwować charakterystyczne przerwy w generacji HFO w OB. Wynik ten stanowi pewne uzupełnienie obserwacji HFO w OB jednakże stanowi, w mojej ocenie, pewien tylko wstępny przyczynek do dalszych badań. Nie wiadomo jak bardzo „lokalna” była ta aplikacja MK801 i jak

ostatecznie wyglądał profil stężeniowy MK801 w OB. Nie wiadomo też czy np. zaobserwowane „przerwy” w HFO były wynikiem zadziałania MK801 na określone elementy składowe OB czy też wynikały z „przeciekania” tego czynnika do sąsiednich struktur w mózgowiu. Bardzo ciekawą obserwacją jest różnica we wpływie MK801 aplikowanego systemowo i lokalnie na aktywność lokomotoryczną, na którą lokalna aplikacja MK801 nie miała wpływu w przeciwieństwie do podania systemowego.

W dalszej kolejności Doktorant opisuje efekt podania aripiprazolu (antypsychotyku 3-ciej generacji) oraz risperidon (antypsychotyku 2-giej generacji). Uzasadnieniem dla użycia tych czynników był fakt, że aripiprazol jest częściowym agonistą D2R zaś risperidon, jak wynika to z danych literaturowych, ma wpływ na HFO w innych obszarach mózgu niż OB. Mam problem z opisem na str. 58 wskazującym na istotny wpływ badanych czynników na moc widma z ilustracją na ryc. 4.15 B, która raczej sugeruje, że takiego wpływu nie ma. Dla większej jasności przydałyby się grafiki słupkowe wraz z zaznaczonymi istotnościami pomiędzy badanymi grupami. Wartość poznawczą tych wyników oceniam jako interesującą, ale wstępne wyniki, które mogą stać się punktem wyjścia do kolejnych badań.

Ostatnim rozdziałem jest dyskusja wraz z wyodrębnionymi częściami poświęconymi ograniczeniom w przeprowadzonych badaniach oraz krótkiego podsumowania najważniejszych osiągnięć i wniosków dysertacji.

Jednym z najważniejszych wniosków w ocenianej rozprawie jest wskazanie na OB jako na źródło HFO zarówno w tej strukturze jak i w innych badanych obszarach mózgu (głównie PC). Autor podkreśla, że użycie muscimolu w OB blokuje HFO natomiast gdy ten aktywator receptorów GABA_A zostaje podany specyficznym w PC, jego efekt jest dużo słabszy. Ponadto, doświadczenie z podaniem TTX do PC, w którym zaobserwowano efektywne wygaszenie HFO faktycznie wskazuje na potrzebę transferu odpowiednich sygnałów za pośrednictwem aksonów z OB do PC w celu wywołania HFO w tej ostatniej strukturze. Wyniki te dostarczają ważkich dowodów prowadzących do ważnego wniosku, iż OB jest faktycznie nadrzędnym generatorem HFO związanych z funkcjonowaniem zmysłu węchu. W tym kontekście bardzo ważną jest obserwacja silnej współzależności generacji HFO w OB z procesem oddechowym, na który wywierany był przez eksperymentatora wpływ poprzez blokowanie nozdrzy. Ważnym wynikiem tej rozprawy jest również stwierdzenie, że to nie bodziec węchowy w postaci różnych zapachów jest odpowiedzialny za wywołanie HFO w OB lecz raczej zmiany ciśnienia związane z procesem oddechowym, co jest zgodne z poprzednimi doniesieniami grupy Dr Hunt'a (Średniawa 2021). Jak jednak Doktorant słusznie zauważa w dyskusji, w niniejszej rozprawie zbadano tylko ograniczoną gamę zapachów.

Podjęty w rozprawie problem i zastosowana metodologia pozwoliły na scharakteryzowanie zewnątrzkomórkowego HFO w różnych obszarach mózgu i na skorelowanie ich z bodźcem ciśnieniowym podczas procesu oddechowego i sformułowane w dyskusji wnioski dotyczą ściśle tych obserwacji. Oczywiście rzetelność naukowa wymaga by unikać nadmiernych spekulacji to jednak

trochę brakuje mi w tej dysertacji choćby zarysowania problemu mechanizmów neuronalnych i sieciowych generacji obserwowanych HFO. Choć stan wiedzy na ten temat w odniesieniu do opuszki węchowej nie jest tak zaawansowany jak w odniesieniu do np. rytmów hipokampalnych, ale niemało już wiadomo i na ten temat ukazało się trochę publikacji w tym nawet prace przeglądowe (np. Kay LM, 2015 Curr Opin Neurobiol, 1016/j.conb.2014.10.004; Kay et al. 2009, Trends Neurosci, 10.1016/j.tins.2008.11.008, praca cytowana w rozprawie). Z racji tego, że doktorat jest bardziej początkiem kariery naukowej niż jej kulminacją kariery naukowej, bardzo chętnie zapoznałbym się z opinią czy hipotezami Doktoranta na temat potencjalnych mechanizmów komórkowych obserwowanych HFO i ich modulacji (np. przez system dopaminergiczny). Na ile wywoływane HFO związane są z modulacją transmisji synaptycznych? Czy może dochodzić do modulacji mechanizmów endogennej pobudliwości? Czy w mechanizmy wywoływania obserwowanych oscylacji mogą być zaangażowane poszczególne typy interneuronów podobnie jak ma to miejsce w hipokampie? W dyskusji na str. 65 Doktorant przywołuje co prawda poprzednie wnioski (Średniawa et al. 2021) o „... excitatory-inhibitory interplay between mitral/tufted neurons and inhibitory interneurons ...”, ale po uzyskaniu tak wielu interesujących wyników spodziewałem się, że Doktorant te kwestie bardziej rozwinie. Mowa też jest o „D2R-dependent change in ion channel kinetics” ze wskazaniem na prawdopodobną modulację kanałów potasowych. Czy Doktorant i współpracujący z nim zespół planuje np. zastosowanie techniki patch-clamp na skrawkach jak np. grupa Nicoli Kuczewskiego (Nicolas Fourcaud-Trocmé, ..., Nicola Kuczewski et al. 2022, 10.1523/ENEURO.0401-21.2021). Nie oczekiwałbym na tym etapie stawiania tez czy nawet formułowania zbyt śmiałych hipotez gdyż zaprezentowany materiał eksperymentalny nie pozwala odpowiedzieć jednoznacznie na te pytania, jednakże chętnie dowiedziałbym się w którą stronę podąża ciekawość badawcza Doktoranta w odniesieniu do fundamentalnego problemu jakim jest mechanizm komórkowy i sieciowy HFO i np. w jakim stopniu mechanizmy neuroplastyczności mogą być zaangażowane w jego modulację. Należy jednak zauważyć, że w podrozdziale „pt. „Limitations of the study” Doktorant potwierdza, że ma świadomość, że badania na pojedynczych neuronach pozwoliłyby bardziej przybliżyć się do poznania mechanizmów HFO i ich modulacji. Oprócz danych elektrofizjologicznych i farmakologicznych Autor prezentuje też ciekawe wyniki dotyczące aktywności lokomotorycznej analizowanej w trakcie doświadczeń. Wnioski wyciągnięte na podstawie dostępnych wyników są poprawne i zaprezentowane w bardzo zwięzły sposób, ale i tutaj chętnie dowiedziałbym się czy Zespół badawczy planuje rozbudować część behawioralną tego projektu. Byłoby to bardzo interesujące zważywszy na ogromną rolę jaką pełni eksploracja węchowa u gryzoni.

Na aktualnym etapie, część rozprawy dotyczącej roli leków antypsychotycznych risperidonu i aripiprazolu oceniam jako interesujące lecz wstępne rozważania, które mogą być przydatne jako „preliminary data” w kolejnych projektach. Niewątpliwie byłby to interesujący kierunek kontynuacji tych rozważań albowiem sam model wywołania HFO wymaga hipofunkcji receptorów NMDA, co

indukuje stany podobne do psychotycznych jak również stany te są ściśle związane z zaburzeniami modulacji dopaminergicznej.

O solidności Doktoranta świadczy fakt, że zarezerwował w swojej dysertacji osobny podrozdział na omówienie ograniczeń w swoich badaniach. Z wymienionymi problemami należy się zgodzić i docenić krytyczny zmysł Autora. Na pochwałę zasługuje również syntetyczne i treściwe zaprezentowanie podsumowania najważniejszych wyników i konkluzji w rozdziale VI.

Praca jest napisana w poprawnym języku angielskim co z pewnością było ułatwione dzięki możliwości konsultacji z promotorem dr hab. Markiem Huntem. Literówek i błędów jest na tyle mało, że nie będę ich wymieniał poza może jednym na str 65, gdzie autor pisze o „... local infusion of D1R and D2R...” mając na myśli zapewne podanie agonistów lub antagonistów tych receptorów.

Podsumowując stwierdzam, że przedłożona mi do recenzji rozprawa doktorska mgr Jacka Wróbla jest bardzo wartościowym dziełem świadczącym o szerokiej wiedzy Kandydata w podjętej tematyce oraz o biegłości w posługiwaniu się dostępnym warsztatem badawczym obejmującym pomiary elektrofizjologiczne i ich analizę, doświadczenia behawioralne i techniki histologiczne. W ramach tej dysertacji postawione zostało oryginalne zagadnienie badawcze, które zaprezentowano na bazie przeglądu literatury w tym na dotychczasowych osiągnięciach grupy badawczej dr hab. Marka Hunta. Rozprawa doktorska spełnia w mojej ocenie warunki określone w art. 187 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2023 r. poz. 742 z późn. zm.). W związku z powyższym, wnioskuję do Rady Naukowej Instytutu Biologii Doświadczalnej o dopuszczenie mgr Jacka Wróbla do dalszych etapów postępowania w sprawie nadania stopnia doktora.

Na podstawie analizy publikacji w bazie Pubmed stwierdziłem, że zawarte w rozprawie doktorskiej wyniki badań zostały opublikowane w trzech publikacjach w Sci. Rep. (w dwóch z nich mgr Jacek Wróbel jest pierwszym autorem), co potwierdza wysoką rangę naukową tych wyników. Mając na uwadze również wagę tematyki badawczej, wysoką jakość wyników pomiarowych i zaawansowaną metodologię eksperymentalną popieram wyróżnienie tej rozprawy.

Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu

KATEDRA I ZAKŁAD

BIOFIZYKI I NEUROBIOLOGII

Łączę wyrazy szacunku

prof. dr hab. Jerzy Mozrzyński

Prof. Jerzy Mozrzyński