

Warszawa, 07. 02. 2022.

Prof. dr hab. Anna Nowicka
Pracownia Neurobiologii Procesów Językowych
Instytut Biologii Doświadczalnej im. M. Nenckiego
Polska Akademia Nauk

RECENZJA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

mgr Alicji Bińkowskiej 'Zmiany poznawcze i psychofizjologiczne u osób długotrwale zażywających marihuanę'

Ocena formalna rozprawy

Przedłożona mi do oceny rozprawa doktorska mgr Alicji Bińkowskiej opiera się o cykl powiązanych tematycznie prac, opublikowanych w czasopismach z listy JCR. Mam pełną świadomość tego, że w przypadku każdej z tych prac, mgr Alicja Bińkowska i współautorzy musieli przejść rygorystyczną procedurę recenzowania manuskryptów. Pragnę więc od razu podkreślić, że publikacja tych artykułów oznacza, iż materiał zawarty w rozprawie doktorskiej został już pozytywnie oceniony przez grono powoływanych przez redakcje recenzentów, będących ekspertami w dziedzinie analizy sygnału i/lub korelatów mózgowych badanych procesów poznawczych. Nie ukrywam więc, że znacząco ułatwia to moje zadanie.

Po streszczeniu w języku polskim i angielskim, zamieszczony jest w rozprawie autoreferat, liczący 20 stron (wraz z bibliografią). Na początku tego autoreferatu Doktorantka umieściła wykaz prac wchodzących w skład cyklu artykułów i opisała swój wkład w powstanie tych publikacji. Mgr Alicja Bińkowska jest pierwszym i korespondującym autorem w obu artykułach. W jednej z prac, Doktorantka oceniła swój udział na 80%, w drugiej zaś na 85%. Również oświadczenia złożone przez współautorów tych publikacji zgodnie wskazują na wiodącą rolę mgr Alicji Bińkowskiej. Jedno z badań, którego wyniki są podstawą pierwszej publikacji, przeprowadzone zostało w ramach realizacji projektu finansowanego przez Uniwersytet SWPS, a Doktorantka była kierownikiem tego projektu. Z kolei drugie badanie przeprowadzone zostało w ramach realizacji projektu finansowanego przez program 'Regionalna Inicjatywa Doskonałości' (MNiSW). Kierownikiem tego projektu była dr hab. Aneta Brzezicka, zaś mgr Alicja Bińkowska – jego głównym wykonawcą.

Autoreferat stanowi krótkie, lecz treściwe omówienie: (i) zagadnienia zaburzeń funkcji poznawczych u osób używających konopi indyjskich, (ii) użytych procedur, (iii) jak również prezentuje główne wyniki i osiągnięcia każdego z opublikowanych przez doktorantkę artykułów. Stanowi on dobry punkt wyjścia do lektury oryginalnych wersji obu publikacji, zamieszczonych w kolejnych częściach rozprawy mgr Alicji Bińkowskiej. Do każdej z tych publikacji dołączone są materiały uzupełniające (które

w pracach tych dostępne są tylko w wersji *on-line*), jak również oświadczenia złożone przez wszystkich współautorów. Oceniana rozprawa spełnia więc wszystkie kryteria formalne.

Ocena merytoryczna rozprawy

Autoreferat

Tym, co spaja prace autorstwa pani mgr Aliny Bińkowskiej od strony metodologicznej jest zastosowanie rejestracji sygnału EEG jako metody pomiaru aktywności mózgu w trakcie wykonywania zadań behawioralnych (dane EEG posłużyły do wygenerowania potencjałów wywołanych, które były następnie analizowane lub dane EEG były analizowane w domenie częstotliwościowej), zaś od strony merytorycznej – badanie wpływu konopi indyjskich i innych substancji psychoaktywnych na funkcjonowanie pamięci epizodycznej i pamięci roboczej w odniesieniu do niewerbalnych bodźców wzrokowych.

Zrekrutowana została duża liczba osób (87), zaś 3 osoby biorące leki psychotropowe wyłączono z grupy uczestników badania. Zastosowana została tzw. procedura ślepej próby – w momencie przeprowadzania badań eksperymentatorzy nie wiedzieli, czy dana osoba używa czy też nie używa jakiejś substancji psychoaktywnych.

Sformułowane zostały cztery pytania badawcze, na które mgr Alicja Bińkowska starała się udzielić odpowiedzi w oparciu o wyniki behawioralne i elektrofizjologiczne, uzyskane w dwóch badaniach.

W badaniu dotyczącym wpływu używania konopi indyjskich na funkcjonowanie pamięci epizodycznej, na poziomie behawioralnym nie wystąpiły różnice pomiędzy grupami, ale były one obserwowane na poziomie neuronalnym, w aktywności mózgu. Różnice te wystąpiły wyłącznie pomiędzy grupą kontrolną a grupą użytkowników wielu substancji psychoaktywnych. Dysocjacja wyników behawioralnych i elektrofizjologicznych może – według Doktorantki – wynikać z tego, że zmiany w aktywności mózgu mogą poprzedzać pojawienie się deficytów poznawczych w osób regularnie używających substancji psychoaktywnych. Analiza potencjałów wywołanych wykazała, że grupie użytkowników wielu substancji psychoaktywnych amplitudy LPC były istotnie wyższe niż w grupie kontrolnej. Ta podwyższona amplituda LPC została zinterpretowana jako efekt większego wysiłku włożonego w wykonanie zadania pamięciowego. Ujmując to zbiorczo – aby uzyskać podobny do grupy kontrolnej poziom wykonania zadania pamięciowego, w grupie PU konieczne jest silniejsze zaangażowanie sieci neuronalnych odpowiedzialnych z procesy pamięciowe. Analiza regresji pokazała, że tylko w grupie kontrolnej wielkość amplitudy LPC była predyktorem trafności rozpoznawania wcześniej prezentowanych bodźców. Zależność ta nie była istotna w grupach PU i CU.

W badaniu dotyczącym wpływu używania konopi indyjskich na funkcjonowanie pamięci roboczej mgr Alicja Bińkowska skupiła się na analizie aktywności oscylacyjnej w trzech grupach doświadczalnych. W trakcie przechowywania informacji w pamięci, moc pasma theta w sposób istotny różnicowała grupę osób używających zarówno konopi indyjskich, jak i innych substancji psychoaktywnych od grupy kontrolnej, ponownie przy braku różnic na poziomie behawioralnym. Interpretacja tego wyniku ponownie odwołuje się do mechanizmów kompensacyjnych, występujących w tej grupie osób badanych. Doktorantka zaobserwowała pozytywną korelację pomiędzy mocą w paśmie theta a czasami reakcji w grupie PU, co może wskazywać na większą trudność zadania dla osób z tej grupy.

Analiza asymetrii półkulowej w paśmie alpha nie wykazała różnic pomiędzy grupami, a negatywna korelacja pomiędzy wskaźnikiem asymetrii a czasami reakcji wystąpiła tylko w grupie kontrolnej.

Już opisując skrótowo wyniki obu badań mgr Alicja Bińkowska odnosi je do danych literaturowych, wykazując ogólnie ich spójność z wcześniej opublikowanymi wynikami badań neuroobrazowych. W części autoreferatu poświęconej dyskusji uzyskanych wyników wskazuje na brak wcześniejszych badań dotyczących wzrokowej pamięci roboczej i epizodycznej u regularnych użytkowników konopi indyjskich, przeprowadzanych wtedy, kiedy przestają być pod bezpośrednim ich wpływem.

Autoreferat w sposób zwięzły prezentuje główne wyniki uzyskane przez Doktorantkę, jak również ich interpretację. Generalnie nie budzi moich zastrzeżeń, choć w trakcie jego lektury dostrzegłam pewne kwestie, które wymagają wyjaśnienia lub doprecyzowania. Wymienione są one poniżej wraz z moimi komentarzami. Następnie przedstawiłam swoje uwagi dotyczące obu publikacji, stanowiących podstawę niniejszej rozprawy. Od razu zaznaczę, że część tych uwag to sugestie do wykorzystania np. w dalszych badaniach (np. kwestie dodatkowych analiz).

Uwagi i komentarze do autoreferatu

- Cykl prac składających się na rozprawę doktorską mgr Alicji Bińkowskiej to dwie publikacje w *Frontiers in Human Neuroscience*. W dorobku dodatkowym wyszczególniona została jeszcze jedna praca z IF, opublikowana również w tym samym czasopiśmie. Moja rada na przyszłość jest następująca: warto stosować „płodozmian”, czyli nie nastawiać się na jedno czasopismo, ale starać się publikować w różnych czasopismach (wyjątkiem od tej reguły może być publikowanie prac tylko i wyłącznie w *Nature* lub *Science*; w tym przypadku na pewno nie będzie rodzić to żadnych pytań i wątpliwości).

- Z opisu zamieszczonego przy każdej z prac wynika, że Doktorantka nie brała udziału w prowadzeniu badań z rejestracją EEG. Również żaden ze współautorów w swoim oświadczeniu nie zazaczył, iż brał udział w przeprowadzeniu badania i zebraniu danych. W obu artykułach wchodzących w skład rozprawy, w podziękowaniach wymieniono osoby, które te badania prowadziły. Chciałam poprosić o skomentowanie tego, a konkretnie o wyjaśnienie, czy Doktorantka osobiście robiła jakąś część badań.

- Nazwa późnego komponentu potencjałów wywołanych – LPC – rozwijana jest przez Doktorantkę do *Late Parietal Component*, podczas gdy w literaturze jest to *Late Positive Component* lub *Late Positive Complex*. Ma on faktycznie topografię ciemieniową, więc można uznać, że autorska nazwa stworzona przez Doktorantkę, w sposób zwięzły łączy różne charakterystyki tego komponentu.

- Pewne wątpliwości budzi Rysunek 3 (str. 10 autoreferatu), pokazujący mapę topograficzną aktywności mózgu w oknie 450-750 ms (okno czasowe LPC). Legenda do tej topografii, czyli skale wskazujące minimalną/maksymalną aktywność powinny być symetryczne, np. od -6 do 6, a na tym rysunku wartość minimalna to -6, maksymalna zaś to 4. Poza tym rysunek ten ilustruje wyniki *old/new effect*, a nie ma na nim pokazanego LPC dla bodźców nowych.

- Na stronie 7 autoreferatu znajduje się takie wyjaśnienie:

„Opisywane badania mają charakter korelacyjny, co uniemożliwia określenie związku przyczynowo - skutkowego pomiędzy używaniem substancji, a występowaniem deficytów poznawczych lub

zmienioną aktywnością mózgu. Wynika to przede wszystkim z ograniczeń prawnych związanych z eksperymentami z konopiami indyjskimi, które obecnie są właściwie niemożliwe do przeprowadzenia w Polsce. Ponadto, badanie długotrwałych skutków używania konopi byłoby bardzo złożone ze względów praktycznych i etycznych, eksperyment taki musiałby trwać co najmniej kilka lat.”

Podczas gdy pierwsze zdanie odnosi się do niemożności ustalania związku przyczynowo-skutkowego między używaniem substancji psychoaktywnych a występowaniem deficytów poznawczych (w oparciu o korelacje można bowiem mówić jedynie o współwystępowaniu pewnych efektów/zjawisk), drugie zdanie tę niemożność ustalenia związku przyczynowo-skutkowego tłumaczy ograniczeniami prawnymi. Wygląda na to, że albo zostało tu coś pominięte, albo jest to jakaś skrócona wersja dłuższych wyjaśnień na temat ograniczeń przeprowadzonych badań – ostatnie zdanie wydaje się bowiem odnosić do możliwości przeprowadzenia badania podłużnego

- Zbyt często używany jest zwrot ‘Według mojej najlepszej wiedzy (...)’ (jak w języku angielskim: *To the best of my knowledge*). Ta wiedza wynika z przeszukiwania baz *Web of Science* czy *Pubmed*, więc czasem by można zastąpić to frazą ‘Nie znalazłam prac pokazujących (...)’.

- W autoreferacie występują pewne drobne błędy interpunkcyjne (np. czasem brak przecinków przed ‘czy’ - strona 4, paragraf 2; strona 6, paragraf 3; strona 11, paragraf 1).

Uwagi i komentarze dotyczące publikacji wchodzących w skład cyklu prac, będących podstawą rozprawy

(1) Binkowska AA, Jakubowska N., Gaca M, Galant N, Piotrowska-Cyplik A, Brzezicka A. (2021) Not Just a Pot: Visual Episodic Memory in Cannabis Users and Polydrug Cannabis Users: ROC and ERP Preliminary Investigation. *Frontiers in Human Neuroscience*, 15:677793. doi:10.3389/fnhum.2021.677793.

- W tym artykule raportowany jest: brak różnic behawioralnych między grupami, istotny *old/new effect* dla FN400, który nie jest istotny dla LPC, ale dla LPC wychodzi efekt główny grupy. Dopiero wyłączenie z grupy osób o krótszym niż 12 godzin abstynencji zaowocowało trendem w przypadku interakcji *old/new effect* x grupa, a analizy *post-hoc* do tej interakcji wykazały istotne różnice pomiędzy grupą kontrolną a grupą zażywającą rozmaite substancje psychoaktywne. Zastanawiam się, czy nie byłoby warto spojrzeć na późny komponent potencjałów RFE (*right frontal old/new effect*), wiązany z monitorowaniem źródeł przetwarzanej informacji. Być może na tym późnym etapie są jakieś różnice pomiędzy grupami i/lub *old/new effect* jest obecny tylko dla niektórych grup.

- Podczas gdy we wstępie (strona 1, paragraf 3), jak i w opisie wyników (strona 8) użyta została poprawna nazwa *Late Positive Component*, w streszczeniu pojawiła się nazwa *Late Parietal Component*.

- Grupa osób wykluczonych z analiz danych elektrofizjologicznych była spora – 15 osób spośród 79, dla których przeprowadzono analizy danych behawioralnych. Brak jest opisu kryteriów wykluczenia z analizy, podane jest tylko takie wyjaśnienie: „(...) because of bad EEG signal” (strona 3, paragraf 2).

- LPC analizowane było dla 9 elektrod. Nie jest to napisane wprost, ale rozumiem, że potencjały z tych 9 elektrod zostały uśrednione. Figura 2B obrazuje przestrzenny rozkład aktywności w oknie

czasowym LPC i jasno z niej widać, że elektrody C2, C4 i C6 nie mieszczą się w obszarze maksymalnych zmian aktywności. Czy ich wyłączenie z analiz wpływa znacząco na wyniki?

- Poza tym – o czym wspominałam w swoich uwagach i komentarzach do autoreferatu – legenda do tej topografii, czyli słupki wskazujące minimalną/maksymalną aktywność powinny być symetryczne, np. od -6 do 6, a na tym rysunku wartość minimalna to -6, maksymalna zaś to 4. Podobna uwaga dotyczy też legendy do Figury 4 (niesymetryczna skala: od -6 do 8). Spodziewam się, że przy zastosowaniu skali symetrycznej topografia się zmieni i nastąpi pewne przesunięcie lokalizacji obszaru maksymalnej aktywności.

- Jak zmiana okna czasowego LPC (np. zawężenie okna, przesunięcie okna) wpływa na topografię? Czy nie uwidacznia się wtedy silniej lewy obszar centralno-ciemieniowy?

- Komponent LPC analizowany był prawym obszarze ciemieniowym, analizy powtórzone zostały dla obszaru ciemieniowego lewej półkuli (czyli w regionie, gdzie LPC jest typowo analizowane) i nie dały wyników istotnych. Czy może być tak, iż zastosowanie bodźców obrazkowych, a nie bodźców werbalnych (typowo używanych w badaniach elektrofizjologicznych *old/new effect*) zaowocowało większą aktywnością obszarów prawej półkuli (ze względu na asymetrię funkcjonalną półkul mózgowych)?

- Dyskusja zaczyna się od następującego zdania *"We believe this is the first EEG investigation (...)".* Akurat w tym miejscu trafniejszy wydawałby się zwrot *'To the best of our knowledge (...)'*.

(2) Binkowska AA, Jakubowska N, Krystecka K, Galant N, Piotrowska-Cyplik A, Brzezicka, A. (2021) *Theta and Alpha Oscillatory Activity During Working Memory Maintenance in Long-Term Cannabis Users: The Importance of the Polydrug Use Context. Frontiers in Human Neuroscience, 15: 740277, doi:10.3389/fnhum.2021.740277.*

- Analiza częstotliwościowa zarejestrowanego sygnału EEG pokazała istotne podwyższenie mocy w paśmie theta (w obszarach czołowych) w grupie PU w porównaniu z CU i CG. Natomiast asymetria w paśmie alfa (w obszarach potylicznych) nie różnicowała trzech grup osób badanych. Sądzę, że w przypadku braku wyników istotnych w klasycznych analizach statystycznych, warto przeprowadzić również statystyki Bayesowskie.

- Czy oba badania, raportowane w poprzedniej i w tej publikacji, przeprowadzone zostały zasadniczo na tej samej grupie uczestników (82 osoby – badanie pamięci epizodycznej, 87 osoby – badanie pamięci roboczej)? Jeśli tak było, to (i) czy kolejność przeprowadzenia dwóch badań była wyrównana na poziomie grupy; (ii) czy inna pula bodźców obrazkowych użyta została w obu badaniach.

- Brak jest opisu kryteriów wyłączenia 18 osób z analiz oscylacji sygnału EEG (aż 21,5% wszystkich uczestników).

Komentarz końcowy

Jestem bardzo ciekawa, czy mgr Alicja Bieńkowska zgodziłaby się z tezą, iż wyniki jej badań można użyć w dyskusji na temat szkodliwości vs. nieszkodliwości używania tylko konopi indyjskich jako argumentów przemawiających za tą drugą tezą.

Podsumowanie recenzji

W finalnej części recenzji pragnę podkreślić, że wymienione powyżej uwagi i komentarze nie powinny przesłaniać faktu, że przedłożona mi do oceny rozprawa doktorska zatytułowana 'Zmiany poznawcze i psychofizjologiczne u osób długotrwale zażywających marihuanę' stanowi prezentację interesującego i wartościowego materiału. Mgr Alicja Bińkowska wykazała, jak bardzo istotne jest uwzględnianie wzorca używania substancji psychoaktywnych (marihuana vs. marihuana i inne substancje psychoaktywne) w ocenie ich wpływu na procesy pamięciowe i aktywność mózgu. W szczególności Doktorantka pokazała, że konsekwencje używania wyłącznie konopi indyjskich wydają się być znacząco słabsze w porównaniu do używania równocześnie i konopi, i innych substancji psychoaktywnych. Na uznanie zasługuje również fakt, iż przypisanie osób do grup eksperymentalnych bazowało nie tylko na subiektywnym raporcie samo-opisowym, lecz również na obiektywnych miarach, czyli na wynikach analiz biochemicznych pobranych od uczestników badania próbek włosów. Ponadto, rozprawa ta pokazuje duże kompetencje mgr Alicji Bińkowskiej w dziedzinie analizy sygnału EEG, jak również jej dużą wiedzę na temat mechanizmów mózgowych badanych procesów. Z całym przekonaniem stwierdzam więc, że rozprawa ta spełnia warunki określone w art. 13 Ustawy z dnia 14 marca 2003 roku 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 czym wnioskuję o dopuszczenie mgr Alicji Bińkowskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Anne Nobile