

65-516 Zielona Góra,
ul. prof. Z. Szafrana 4a
e-mail: elapharm@ump.edu.pl

Zielona Góra, 17.04.2023

Ocena

rozprawy doktorskiej mgr Magdaleny Białoń
z Zakładu Neurochemii Instytutu Farmakologii im. Jerzego Maja
Polskiej Akademii Nauk

pt. „Porównanie wpływu 1-metylo-1,2,3,4-tetrahydroizochinoliny (1-MeTIQ)
i olanzapiny na zaburzenia behawioralne i molekularne obserwowane
w zwierzęcych modelach schizofrenii”

Promotor: dr hab. Agnieszka Wąsik

Podstawa prawna sporządzenia recenzji

Niniejszą recenzję przygotowałam w oparciu o komplet dokumentów przesłanych przez Kierownika Centrum Informacji Naukowej, Biblioteki i Archiwum Instytutu Farmakologii im. Jerzego Maja PAN wraz z oprawionym wydrukiem komputerowym pracy doktorskiej mgr Magdaleny Białoń.

Uzasadnienie podjętego przez Doktorantkę tematu rozprawy

Schizofrenia pochodzi od greckich słów *schizein* – rozszepić i *phren* - umysł i jak podkreśla we wstępie autorka dysertacji jest ciężkim zaburzeniem psychicznym i jedną z najczęściej występujących chorób psychicznych, na którą choruje około 1 % populacji. Dotyka w równym stopniu kobiet i mężczyzn. Choroba ta charakteryzuje się występowaniem objawów wytwórczych, pozytywnych (halucynacje czy urojenia) oraz negatywnych,

deficytowych (apatia, wycofanie, zubożenie reakcji społecznych), a także występowaniem zaburzeń poznawczych (deficyty obejmują osłabienie inteligencji, wybiórcze upośledzenie uwagi, pamięci, koncentracji, funkcji wzrokowo-przestrzennych). Patogeneza i patomechanizm choroby jest bardzo złożony, dużą rolę przypisuje się czynnikom genetycznym, epigenetycznym; podkreśla się również udział stresu psychospołecznego.

Według Andreasen N.C. schizofrenia jest zaburzeniem neurorozwojowym, które może pochodzić z błędnego tworzenia sieci neuronalnych, głównie na poziomie wysyłania i odbierania informacji przez synapsy lub wypustki dendrytów, a konsekwencją, jest zjawisko dysmetrii poznawczej związane z zaburzeniami pamięci, koncentracji uwagi, inteligencji emocjonalnej, przetwarzania informacji. Zaburzenia funkcji poznawczych w zakresie większości domen mogą pojawiać się już przed pierwszym epizodem choroby i mogą stanowić neuropsychologiczny wskaźnik predyspozycji do zachorowania i rokowania.

Część autorów uważa, że w rozwoju choroby ważną rolę odgrywają procesy neurodegeneracyjne związane ze zniszczeniem synaps, aksonów i dendrytów na skutek uwarunkowań genetycznych, czynników zewnętrznych czy nadmiernego przekąźnictwa glutaminergicznego, czego konsekwencją może być neurodegeneracyjne wzbudzenie o charakterze toksycznym, w którym prawdopodobnie uczestniczy receptor NMDA.

Leczenie schizofrenii to proces trwający całe życie. W skład terapii wchodzi farmakoterapia, psychoterapia, psychoedukacja, terapia zajęciowa. Dostępna terapia farmakologiczna opiera się na stosowaniu neuroleptyków typowych (haloperidol) i atypowych (risperidon, aripiprazol, olanzapina). Stwierdzono korzystniejsze działanie leków atypowych na różne sfery funkcjonowania poznawczego; ponadto leki atypowe mają mniejszy potencjał wywoływania działań niepożądanych (objawów pozapiramidowych i późnych dyskinez). Należy jednak zauważyć, że stosowanie leków atypowych może prowadzić do rozwoju zespołu metabolicznego, stąd nadal aktualna jest potrzeba poszukiwania i opracowania nowych, skutecznych i bezpiecznych leków przeciwpsychotycznych, których stosowanie będzie znosiło deficyty poznawcze i łagodziło negatywne objawy schizofrenii. Ważne są również badania nowych substancji o odmiennych niż dotychczas mechanizmach działania, modulujących działanie leków przeciwpsychotycznych, co może w konsekwencji wpływać na ich korzystniejszy profil terapeutyczny.

Biorąc pod uwagę powyższe fakty problematyka poruszona w przedstawionej do recenzji rozprawie doktorskiej, która dotyczy oceny przeciwpsychotycznego potencjału endogennej aminy, 1-metylo-1,2,3,4-tetrahydroizochinolizy (1-MeTIQ) w porównaniu z atypowym lekiem przeciwpsychotycznym - olanzapiną w aspekcie behawioralnym,

neurochemicznym i molekularnym badanych w zwierzęcych modelach schizofrenii jest aktualna.

Przedstawione w rozprawie doktorskiej badania wpisują się w problematykę, (którą od lat prowadzi Pani Prof. Lucyna Antkiewicz-Michaluk) w zakresie neuroprotekcynnego, przeciwwzależniowego i przeciwdepresyjnego działania 1-MeTIQ.

Badania dotyczące przedstawionej do oceny dysertacji zostały sfinansowane z grantu NCN OPUS 13 20117/25/B/NZ7/01096, oraz ze środków statutowych Zakładu Neurochemii IF PAN.

Formalny opis rozprawy

Przedstawiona do recenzji rozprawa ma charakter typowy dla prac doktorskich. Doktorantka załączyła formę opracowanego intrologatorsko opracowania liczącego 206 stron. Praca składa się z obszernego wstępu, celu pracy, materiałów i metod zastosowanych w pracy, wyników, potwierdzonych dobrze udokumentowanymi 34 rycinami i 18 tabelami, dyskusji, podsumowania, wnioski - w sumie 2, wykazu użytych w pracy skrótów.

Rozprawę kończy poprawnie cytowane, ale niestety nie numerowane piśmiennictwo, brak wykazu tabel i rycin, brak streszczenia w języku polskim i angielskim.

Ocena merytoryczna

Cel pracy został sformułowany poprawnie i dotyczy oceny przeciwpsychotycznego potencjału 1-MeTIQ badanego w zwierzęcych modelach schizofrenii w testach behawioralnych, biochemicznych i molekularnych i porównaniu jego efektów w stosunku do atypowego leku przeciwpsychotycznego - olanzapiny.

Wstęp pracy (23 strony) napisany jest kompetentnie, a jego podział na podrozdziały ułatwia czytającemu lekturę.

Doktorantka wyczerpująco omawia zagadnienia dotyczące objawów i etiologii schizofrenii, odnosi się do znanych dotychczas hipotez dotyczących schizofrenii, omawia zwierzęce modele (oparte na glutaminianowej teorii schizofrenii) powszechnie stosowane w badaniach przedklinicznych. Dokładnie omawia rolę stresu oksydacyjnego w schizofrenii wskazując na korzystne działanie związków przeciwutleniających takich jak np. N-acetylocysteiny w wspomagającym leczeniu tego schorzenia.

W kolejnym podrozdziale Doktorantka starannie omówiła powiązanie schizofrenii z procesem zapalnym wskazując na korelację pomiędzy podwyższonym poziomem IL-6 w surowicy, a ryzykiem wystąpienia epizodów psychiatrycznych.

W dalszej części Kandydatka omawia stosowane w schizofrenii terapie klasyczne i nowej generacji, podkreślając, iż leki atypowe są przez pacjentów lepiej tolerowane ze względu na mniej nasilone objawy niepożądane (polekowe objawy pozapiramidowe - EPS), ale co ważne zauważa, że żaden z dostępnych na rynku leków nie jest wolny od skutków ubocznych; stąd potrzeba poszukiwania nowych terapii, które będą łagodzić wytwórcze, a także poznawcze symptomy choroby.

Biorąc pod uwagę, iż celem pracy jest porównanie efektów wywołanych przez 1-MeTIQ z olanzapiną - omawia jej mechanizm działania oraz działania niepożądane występujące po jej zastosowaniu. W kolejnym podrozdziale omawia pochodzenie i strukturę chemiczną endogennej aminy - 1-MeTIQ, jej występowanie i właściwości neuroprotektoryjne, które wg cytowanych przez Doktorantkę autorów jest spowodowane zdolnością do hamowania MAO, a także zdolnością zmiatania wolnych rodników. Jako uwagę krytyczną dodaję, iż niestety tytuł podrozdziału nie koresponduje z omawianą treścią, ponieważ autorka w tej części omawia także właściwości przeciwdepresyjne 1-MeTIQ, a także sugeruje, że 1-MeTIQ może wywierać korzystny wpływ na symptomy związane ze schizofrenią (str. 27), ale nie popiera tych sugestii żadnymi doniesieniami literaturowymi na wspomniany temat.

Materiał i dobrane metody badawcze zostały opisane przejrzysto; tak szerokie zastosowanie różnych testów (behawioralnych, biochemicznych i molekularnych) świadczy o opanowaniu szerokiego wachlarza ważnych i nowoczesnych metod, co potwierdza znakomite przygotowanie Doktorantki do prowadzenia dalszych badań naukowych.

Na wykonanie badań uzyskano zgodę Lokalnej Komisji Etycznej, a badania na zwierzętach prowadzono zgodnie z Dyrektywą Parlamentu Europejskiego i Rady 2010/63/UE z dnia 23 września 2010 w sprawie ochrony zwierząt wykorzystywanych do celów naukowych.

Ocenę statystyczną wyników przeprowadzono w oparciu o znane i powszechne stosowane testy - jednoczynnikową i dwuczynnikową, analizę wariancji ANOVA, test t-Studenta. Do analizy post hoc wykorzystano test Duncana.

Potwierdzam sprawne posługiwanie się Doktorantki narzędziami analizy statystycznej.

Wyniki badań zostały przedstawione na 108 stronach, w formie dobrze opracowanych 34 rycin i 18 tabel.

Dyskusja zajmuje 13 stron i przeprowadzona jest kompetentnie w oparciu o uzyskane wyniki. Doktorantka zestawia uzyskane wyniki z dostępnym, aktualnym piśmiennictwem.

Sposób prowadzenia dyskusji wskazuje na zdolność krytycznego podejścia autorki pracy do własnych wyników. Uzyskane wyniki stały się podstawą do sformułowania 2 wniosków, które wskazują, że p/lękowe i przeciwpsychotyczne działanie 1-MeTIQ, jest powiązane z wpływem na transmisję monoaminergiczną i glutaminianergiczną, a za działanie neuroprotektoryjne tej endogennej aminy odpowiada redukcja stresu oksydacyjnego.

Dokładna lektura recenzowanej pracy nasuwa kilka uwag:

1. Proszę o wyjaśnienie dlaczego do eksperymentów użyto tak dużych zwierząt (o wadze 225-250 g); zbyt skąpe są dane dotyczące zwierząt (liczebność zwierząt w grupach) i ich bytowania (wilgotność względna powietrza).
2. Str. 30, 31 cytuję „dawki leków zostały wyznaczone na podstawie poprzednich badań (w przypadku 1-MeTIQ)” - to endogenna amina, poza tym „przy poprzednich” ...wypada podać literaturę.
3. Nie podano producentów poszczególnych urządzeń wykorzystanych w pracy.
4. W badaniach behawioralnych, szczególnie tych, gdzie pomiarów nie dokonuje się automatycznie, warto, aby osoba wykonująca eksperymenty nie знаła rodzaju podawanych substancji - tych informacji nie znalazłam w recenzowanej pracy.
5. Brak spisu tabel i rycin.
6. Załączone do opracowania piśmiennictwo nie zostało ponumerowane, co bardzo utrudnia identyfikację wyników z danymi literaturowymi.
7. Brak streszczenia w języku polskim i angielskim. Doktorantka załączyła tylko krótkie podsumowanie wyników.

Wniosek końcowy

Niezależnie od powyższych, niedociągnąć pracę oceniam bardzo pozytywnie. Doktorantka w pełni zrealizowała założony cel badań. Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego, potwierdza ogólną wiedzę teoretyczną Kandydatki oraz umiejętność samodzielnego rozwiązywania problemów naukowych.

Uważam, że dysertacja ma charakter poznawczy i aplikacyjny, jest źródłem informacji na temat przeciwpsychotycznego i przeciwlękowego działania 1-MeTIQ i może przyczynić się do poszukiwań nowych leków lub ich połączeń, które będą niwelować deficyty poznawcze i negatywne objawy schizofrenii. Wcześniejsze badania Zespołu naukowego Pani

Prof. Antkiewicz-Michaluk wskazały na modulujący wpływ 1-MeTIQ na szereg układów neurotransmisyjnych w mózgu szczura, szczególnie na system dopaminergiczny i glutaminergiczny, które to zdaniem wielu autorów odgrywają istotną rolę w schizofrenii, Autorka potwierdziła w badaniach biochemicznych ex vivo oraz eksperymentach mikrodializy in vivo wpływ 1-MeTIQ na metabolizm monoamin oraz na poziom glutaminy.

Dobrym zwyczajem jest wymóg opublikowania części wyników w czasopismach o dużym indeksie wpływu. Doktorantka opublikowała 5 prac (w 2 jest pierwszym autorem), które dotyczą efektów działania 1-MeTIQ, na poziomie behawioralnym, neurochemicznym i molekularnym, wskazując na modulujący wpływ tego związku na szereg układów neurotransmisyjnych w mózgu szczura.

Reasumując, uważam, że przedłożona do oceny rozprawa doktorska spełnia warunki określone w art. 187 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (tj. Dz.U. 2022, poz. 574 z późn. zm.) i **zwracam się z wnioskiem do Rady Naukowej Instytutu Farmakologii im. Jerzego Maja Polskiej Akademii Nauk o dopuszczenie Pani mgr Magdaleny Białoń do dalszych etapów postępowania w sprawie nadania stopnia doktora w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu, dyscyplinie nauki medyczne.**

Prof. dr hab. Elżbieta Nowakowska

