

Warszawa 2.03.2023

Recenzja rozprawy doktorskiej mgr Anny Aleksandry Radlickiej „Molekularne mechanizmy związane z pozaruchowymi objawami choroby Parkinsona „ wykonanej w Instytucie Farmakologii im. Jerzego Maja Polskiej Akademii Nauk pod kierunkiem dr hab. Jana Rodriqueza Parkitny, prof. Instytutu oraz prof. dr hab. Joanny Pery na prośbę Rady Naukowej Instytutu Farmakologii im. Jerzego Maja Polskiej Akademii Nauk.

Rozprawa na stopień doktora nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki medyczne

Choroba Parkinsona to schorzenie w którym występują objawy ruchowe i pozaruchowe o różnym nasileniu. Uważa się, że fenotyp choroby to nie tylko ruchowy zespół dopaminergiczny, lecz u chorych występują także zaburzenia ośrodkowego oraz obwodowego układu nerwowego spowodowane dysfunkcją wielu układów neurotransmiterów (Titova i wsp. 2017).

Tak więc obserwujemy chorych z dominującym niedoborem dopaminy (zaburzenia ruchowe), ale mających także cechy zespołu cholinergicznego, noradrenergicznego czy serotonergicznego o różnym nasileniu. Obecnie wyróżnia się 2 główne podtypy choroby Parkinsona: *Brain-first* i *Body-first* (Berg i wsp. 2021).

Mechanizmy powstawania objawów klinicznych w chorobie Parkinsona nie są całkowicie poznane, więc badania prowadzone przez Kandydatkę należy uznać za uzasadnione.

Ocena formalna rozprawy:

Praca została wykonana w Zakładzie Neurofarmakologii Molekularnej Instytutu Farmakologii Molekularnej Instytutu Farmakologii im. Jerzego Maja Polskiej Akademii Nauk.

Promotorzy:

dr hab. Jana Rodriqueza Parkitny, prof. IF PAN z Instytutu Farmakologii Molekularnej Instytutu Farmakologii im. Jerzego Maja Polskiej Akademii Nauk.

oraz prof. dr hab. Joanny Pery z Wydziału Lekarskiego Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego.

Rozprawa doktorska liczy 163 stron, zawiera: spis treści, streszczenie w języku polskim i angielskim, wstęp, cel pracy, materiały i metody, wyniki, dyskusja, wnioski, bibliografię, wykaz skrótów, spis rycin (30), spis tabel (16).

Podano w pracy, że projekt uzyskał zgodę Komisji Bioetycznej Uniwersytetu Jagiellońskiego oraz

Komisji Etycznej do spraw doświadczeń na zwierzętach w Krakowie na przeprowadzenie badania.

Ocena merytoryczna rozprawy:

We wstępie Kandydatka przedstawia definicję i epidemiologię choroby Parkinsona, jej objawy i diagnozę, przebieg, procesy neurozwyrodnieniowe, różnorodność fenotypową choroby, modele zwierzęce oraz transkryptomikę.

Jednakże nie poświęca uwagi zaburzeniom układów neurotransmiterów i nie przedstawia stanu aktualnej wiedzy dotyczącej ich wpływu na objawy kliniczne (ruchowe i pozaruchowe).

Cele pracy są określone na str 25.

Głównym celem pracy było zbadanie udziału dysfunkcji układu dopaminergicznego w powstawaniu wybranych objawów poza ruchowych w chorobie Parkinsona.

Materiały i Metody

Badania zostały przeprowadzone w dwóch zakresach: behawioralnym i transkryptomycznym, na zwierzęcym modelu choroby Parkinsona i z udziałem pacjentów kwalifikowanych do zabiegu głębokiej stymulacji mózgu. (co umożliwiło pobranie krwi także po odstawieniu leków dopaminergicznych).

Badania z wykorzystaniem zwierząt laboratoryjnych

Metody nowoczesne, opisano dokładnie (zwierzęta, podanie L-DOPY, układ doświadczeń behawioralnych, pomiary masy ciała, badanie sposobu poruszania się, test pręta obrotowego „rota rod”, test instrumentalnego poszukiwania wrażeń, test otwartego pola, test rozpoznawania nowego obiektu, test probabilistycznego przeuczania, test zakopanego jedzenia, test preferencji sacharyny, pobranie mózgowia i jego preparatyka, barwienie immunofluorescencyjne na obecność hydroksylazy tyrozynowej, profilowanie przestrzenne ekspresji genów myszy metodą transkryptomiki przestrzennej).

Przeprowadzono staranną analizę statystyczną (opisana strona 48-50).

Badania z udziałem ludzi

Opisano charakterystykę badanej grupy, wywiad lekarski, ocenę funkcji ruchowych i pozaruchowych (tabela 5, podano kwestionariusze), pobranie krwi, badanie ekspresji genów we krwi obwodowej pacjentów oraz analizę statystyczną danych kwestionariuszowych i poziomu ekspresji badanych genów we krwi.

Jednakże, nie przedstawiono w pracy jakie podtypy choroby Parkinsona reprezentowali chorzy (a można to było dokonać na podstawie analizy historii chorób badanych pacjentów).

Nie podano też czy u osób tych występowały czynniki ryzyka zaburzeń kontroli impulsów (co ma wpływ na przebieg leczenia dopaminergicznego).

Wyniki

Opis wyników też podzielony na dwie części, przedstawiony w rycinach i tabelach przygotowanych bardzo starannie.

U **myszy** z postępującą utratą neuronów dopaminergicznych zaobserwowano przejściową nadwrażliwość na nagrodę oraz obniżenie masy ciała w zaawansowanym stadium rozwoju fenotypu. Nie zauważono anhedonii, zaburzeń węchu, pamięci ani procesów uczenia się opartego o wykonywanie zadań instrumentalnych, w tym przeuczania. Myszy z upośledzonym przekazywaniem dopaminergicznym wykazywały natomiast przejściową zwiększoną aktywność w testach wymagających odpowiedzi instrumentalnych, co można interpretować, jako nadwrażliwość na nagrodę i nasilenie poszukiwania wrażeń. Efekty chronicznych podań L-DOPA były ograniczone do łagodnych zmian zachowań lękowych, niewielkich zmian w funkcjach ruchowych i obniżeniu preferencji sacharyny u samic.

U **pacjentów** z zaawansowaną chorobą Parkinsona przyjmowanie leków dopaminergicznych znacząco zmniejszało nasilenie objawów ruchowych, było także korzystne względem funkcji poznawczych i lęku. Odstawienie leków dopaminergicznych u pacjentów z zaawansowaną chorobą nie wpłynęło na większość objawów pozaruchowych, w tym na apatię i zaburzenia zachowania.

Badania transkryptomiczne wykazały specyficzne efekty L-DOPA wobec podwyższenia poziomu ekspresji genów w poszczególnych strukturach przodomózgowia badanych myszy (po raz pierwszy zaprezentowano efekty podań L-DOPA na ekspresję genów w przodomózgowiu mysiego modelu choroby Parkinsona metodą transkryptomiki przestrzennej).

O ile w mózgowiu efekty leczenia dopaminergicznego u zwierząt z deficytem tego neuroprzekaźnika na transkryptom były wyraźne, „wpływ leków dopaminergicznych na ekspresję genów we krwi nie został zaobserwowany (nie zanotowano różnic w abundancji transkryptów badanych genów we krwi obwodowej podczas stosowania leków i po ich odstawieniu)”(ale mamy przecież 2 sposoby działania lewodopy: krótkotrwałe i długotrwałe !). Tutaj leki były odstawiane na 2 do 7 dni , (średnia ?), więc działanie długotrwałe lewodopy było zachowane.

Dyskusję Kandydatka przeprowadza sprawnie, posługując się odpowiednim, nowoczesnym piśmiennictwem (bardzo starannie przygotowane, także redakcyjnie), a sposób prowadzenia dyskusji świadczy o dobrej wiedzy w tym zakresie.

Wnioski na stronie 137 są odpowiedzią na cele pracy.

W mojej ocenie najbardziej cenny jest fragment: „Wykorzystanie modeli łączących postępującą utratę neuronów dopaminergicznych oraz noradrenergicznych, serotonergicznych lub cholinergicznych mogłoby pomóc rozszerzyć wyniki przeprowadzonych badań. Ważne jest zapewnienie dużej próby w badaniach z udziałem pacjentów, jak i tych z wykorzystaniem zwierząt, aby zniwelować efekty zmienności osobniczej i zwiększyć porównywalność wyników z innymi doniesieniami”. Ta opinia świadczy o dojrzałości naukowej Kandydatki i całkowicie się z nią zgadzam.

Podsumowanie

Recenzja rozprawy doktorskiej mgr Anny Aleksandry Radlickiej „Molekularne mechanizmy związane z pozaruchowymi objawami choroby Parkinsona „ przedstawia oryginalne rozwiązanie problemu naukowego. Praca ma nowatorski charakter, wykorzystano nowoczesne techniki badawcze.

Doktorantka wykazała ogólną wiedzę teoretyczną i umiejętność samodzielnego prowadzenia pracy naukowej. Rozprawa doktorska spełnia warunki określone w art. 187 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce.

Wnioskuje do Rady Naukowej Instytutu Farmakologii im. Jerzego Maja Polskiej Akademii Nauk o dopuszczenie mgr Anny Radlickiej do dalszych etapów postępowania w sprawie nadania stopnia doktora w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu, dyscyplinie nauki medyczne.