

Prof. dr hab. n. med. Marek Kowalczyk
Wydział Rehabilitacji, AWF w Warszawie

OCENA
Rozprawy doktorskiej mgr Joanny Jastrzębskiej
pt. " Wpływ leków przeciwdepresyjnych na uzależniające działanie kokainy
u zwierząt z doświadczalną depresją"

Wybór tematu bardzo aktualny. Zaburzenia depresyjne są jednym z najczęstszych zaburzeń psychicznych i wiążą się z pogorszeniem funkcjonowania społecznego chorego i obniżeniem jakości jego życia. Trwające od ponad pięćdziesięciu lat poszukiwania biochemicznych czynników wpływających na zdrowie i chorobę spowodowały rewolucyjną zmianę naszych poglądów na naturę zaburzeń emocjonalnych i depresyjnych oraz uzależnień od psychostymulantów. Wcześniejsze dokonania były w dużej mierze dziełem przypadku i zaistniały dzięki szczęśliwym zbiegom okoliczności. Takie podejście – przypadkowe- do badań nad biochemią mózgu trwałoby do dziś, gdyby nie doszło do przełomu, czyli odkrycia grup receptorów, które są białkami tkwiącymi w żywej i wciąż podlegającej zmianom błonie komórki nerwowej. Jak wszystkie białka w żyjącym organizmie, receptory mogą zmieniać swoją budowę, co zasadniczo modyfikuje ich właściwości i sprawia, że mogą przyłączać inne neurotransmitery o różnej lub podobnej strukturze. Pierwsze grupy leków psychotropowych działały niespecyficycznie, wpływały one więcej niż na jedną parę neurotransmitter-receptor. W rezultacie leki te miały wiele działań ubocznych. Jednak działania neurofarmakologów doprowadziły do powstania nowej generacji “czystych” leków- takich, które mogą wpływać prawdopodobnie na jeden rodzaj receptora, ale nadal pozostaje pytanie czy to jest na pewno prawda. Drugim istotnym problemem w przedstawionej pracy jest uzależnienie od narkotyku, jakim jest kokaina. Badania prowadzone przez Europejskie Centrum Monitorowania Narkotyków i Narkomanii sugerują, że w ciągu ostatnich lat nastąpił znaczny wzrost nadużywania kokainy. Kokainizm staje się problemem społecznym i medycznym także w Polsce. Powodem, dla którego ludzie sięgają po kokainę, są jej właściwości euforyzujące, które prowadzą do uzależnienia psychicznego, aby poprawić sobie samopoczucie. Dlatego

poszukuje się skutecznego leczenia uzależnienia od kokainy, która nie tylko hamowałaby chęć zażywania kokainy, ale również powrót do uzależnienia po okresie abstynencji.

Patogeneza tych zaburzeń nadal jednoznacznie nie jest znana. Ponadto nie ma możliwości odtworzenia zasadniczych cech zaburzeń psychicznych u człowieka w modelach zwierzęcych, występują również trudności w porównaniu stanów afektywnych, komunikacji i związków społecznych u zwierząt z odpowiednimi stanami u człowieka. Tak więc procedury testów na zwierzętach w procesie opracowywania nowych standardów psychoterapeutycznych mają ograniczoną użyteczność. I wreszcie, kliniczną ocenę nowych leków utrudnia brak homogenności w obrębie grup diagnostycznych i trudności związane z zastosowaniem wiarygodnych i czułych mierników efektu terapeutycznego. Dlatego też badania eksperymentalne i kliniczne środków psychotropowych często dawały wyniki niejednoznaczne lub niespójne.

Praca doktorska mgr Joanny Jastrzębskiej wpisuje się w ten nurt badań i uzupełnia obecny stan wiedzy o istotne dla terapii kokainizmu informacje. W swojej rozprawie Doktorantka postanowiła poszerzyć wiedzę na temat współwystępowania tych dwóch patologii, wyjaśnienie udziału w nich receptorów serotoninowych 5-HT_{2C} oraz ocenę skuteczności działania leków przeciwdepresyjnych (LPD) i nowych związków w przedklinicznym modelu tych dwóch chorób. W pracy scharakteryzowano zwierzęcy model współwystępowania depresji i uzależnienia od kokainy z wykorzystaniem dwóch połączonych zwierzęcych modeli: modelu depresji (indukowanej (OBX) oraz genetycznej (WKY) i modelu samopodawania kokainy. Różnice behawioralne oceniano w trzech różnych etapach uzależnienia: wejścia/podtrzymywania nałogu, abstynencji oraz nawrotu do nałogu. Oceniono poziom neuroprzekaźników i ich metabolitów w wybranych strukturach mózgu szczurów z indukowaną i genetyczną depresją. Badano działanie wybranych LPD i substancji o potencjalnych efektach przeciwdepresyjnych (podania jednorazowe i wielokrotne) z wykorzystaniem wcześniej przyjętego zwierzęcego modelu współwystępowania depresji i uzależnienia od kokainy. Tak postawiony cel pracy spełnia podstawowe kryteria badawcze, dla podkreślenia wartości pracy badawczej należy dodać, że Doktorantka przebadła w różnych aspektach 11 substancji aktywnych w tym większość to leki stosowane w terapii depresji.

Przedstawiona do oceny praca wraz z piśmiennictwem liczy 164 strony. Wstęp, cel pracy, materiał i metody, wyniki doświadczeń, dyskusja, wnioski, spis tabel i rysunków, streszczenie po polsku i angielsku oraz piśmiennictwo - są rozdziałami pracy zgodnie ze

schematami pisania prac doktorskich. Praca napisana jest bardzo starannie i pomimo bardzo dużej ilości wyników czyta się dość łatwo. Warto dodać, że na początku pracy są podane skróty, co ułatwia śledzenie twórczej działalności Doktorantki.

We wstępie, na 18 stronach Autorka wykazała się bardzo dobrą znajomością przedmiotu, omawia symptomy w tym również liczne objawy nieswoiste depresji oraz uzależnienia od kokainy. W tej części pracy przytacza dane o różnej formie terapii w tym profilu farmakologicznym leków przeciwdepresyjnych oraz modelach zwierzęcych związanych z badaniem depresji i uzależnieniem od substancji psychoaktywnych. Osobną część stanowi omówienie wg. danych literaturowych udziału receptorów serotoninowych 5-HT_{2C} w mechanizmie depresji i uzależnienia od substancji psychoaktywnych. Rozdział ten znacząco wspierany piśmiennictwem oraz 4 tabelami jest bardzo istotną częścią rozprawy. Uważam, że opracowanie to dobrze wyraża stosunek Doktorantki do aktualnego stanu wiedzy w obszarze, którego dotyczy rozprawa doktorska.

Jak wspomniano już wcześniej cel pracy jest ambitny, nawiązujący do najnowszych badań w tym zakresie, przedstawiony jest jasno, a na postawione pytania wyczerpująco odpowiada w dalszej części pracy, co świadczy o dojrzałości badawczej Autorki.

Rozdział materiały i metody na 13 stronach i w 2 tabelach, przedstawia warunki przeprowadzonych doświadczeń, podawanych substancji oraz stosowane metody badawcze behawioralne i biochemiczne. Należy podkreślić, że w badaniach użyto instrumentalnej procedury samopodawania substancji, która jest najlepszą symulacją zjawiska nadużywania związków przez ludzi. Badania behawioralne były istotnie uzupełnione badaniami neurochemicznymi, w których Doktorantka wykorzystwała nowoczesne techniki HPLC/EC, LC-MS/MS oraz pomiar ekspresji białka metodą Western Blot. Metody wykorzystane w rozprawie zostały opisane bardzo dokładnie, w sposób pozwalający na powtórzenie wykonanych eksperymentów.

Na szczególne podkreślenie zasługuje jednak fakt szerokiego zakresu umiejętności badawczych Doktorantki od bardzo licznych badań behawioralnych, do nowoczesnych analiz biochemicznych, co należy raczej do rzadkości.

Wykorzystując procedury behawioralne i neurochemiczne uzyskano dużo wyników, które Doktorantka opisała na 80 stronach i przedstawiła na 52 rysunkach i w 2 tabelach. Dowodzi to dużej pracy, jaką Doktorantka włożyła w realizację zamierzonych badań i staranność w przedstawieniu wyników, a liczba wykonanych eksperymentów jest wręcz imponująca. Część doświadczalna rozprawy zasługuje na bardzo wysoką ocenę, a uzyskane

wyniki stanowią spójną całość (badania behawioralne i neurochemiczne) mającą duże znaczenie poznawcze w pogłębianiu wiedzy o roli receptorów 5-HT_{2C} na temat mechanizmów zaangażowanych w patogenezę depresji ze współwystępującym uzależnieniem od kokainy. W mojej ocenie prawdopodobnie pierwszy raz kompleksowo scharakteryzowano zwierzęcy model depresji i uzależnienia od kokainy oraz przedstawiono wpływ leków przeciwdepresyjnych i substancji o potencjalnym działaniu przeciwdepresyjnym w tym modelu. Zastosowane analizy statystyczne są właściwe dla tego typu badań. Właściwy sposób przedstawienia swoich wyników w kontekście zdobyczy innych autorów a zwłaszcza krytyczny stosunek do osiągnięć własnych i cudzych jest dowodem dojrzałości naukowej.

Dyskusja na 10 stronach wsparta 2 tabelami, przeprowadzona została z dużą znajomością współczesnego piśmiennictwa związanego z przedmiotem rozprawy. Na uwagę zasługuje tu konfrontowanie własnych wyników z aktualnymi danymi do roku 2017 włącznie. Długa lista piśmiennictwa (262 pozycje), została w pełni wykorzystana. Wnioski w liczbie czterech korespondują z uzyskanymi wynikami.

Podsumowując, w zgodzie z Doktorantką uważam, że leki przeciwdepresyjne zależnie od farmakologicznego mechanizmu działania wywierały zróżnicowany wpływ na samopodawanie kokainy u szczurów w modelu z bulbektomią (OBX) i u szczurów po operacji pozorowanej (SHAM). Imipramina (IMI) osłabiała właściwości nagradzające kokainy zarówno w grupie SHAM i OBX, natomiast Agomelatyna (AGO) tylko w grupie zwierząt SHAM. IMI, Escitalopram, Mirtazapina oraz AGO po jednorazowych podaniach osłabiały nawrót zachowań poszukiwawczych kokainy w grupie SHAM i OBX, natomiast po wielokrotnych podaniach skuteczność w łagodzeniu nawrotu wykazała jedynie IMI.

N-acetylocysteina i amid N-cetylocysteiny (AD4), substancje o potencjalnych efektach przeciwdepresyjnych, znacząco hamowały nawrót zachowań poszukiwawczych kokainy po jednorazowych podaniach, dodatkowo AD4 osłabiała nawrót do nałogu po podaniach wielokrotnych w okresie abstynencji tak samo efektywnie u szczurów z grupy kontrolnej, jak i u zwierząt OBX. Agoniści receptorów 5-HT_{2C} (RO 60-0175 i WAY 161503) osłabiali nawrót zachowań poszukiwawczych kokainy po podaniach jednorazowych, a po podaniach wielokrotnych byli skuteczni tylko w przypadku bodźca warunkowego w grupie SHAM i OBX. Ten ostatni wynik potwierdza istotny udział tych receptorów w nawrotach zachowań poszukiwawczych kokainy zarówno u zwierząt z depresją, jak i u zwierząt tylko uzależnionych od kokainy. Uważam, że te badania wnoszą nowe informacje, ale wymaga to jeszcze dalszych prac, aby można było te metody z pełną odpowiedzialnością zastosować w

klinice. Oceniana praca wnosi nowe elementy poznawcze i moim zdaniem odpowiada w pełni warunkom stawianym przez Ustawę rozprawom na stopień doktora nauk i dlatego stawiam Wysokiej Radzie Instytutu Farmakologii PAN w Krakowie, wniosek o dopuszczenie mgr Joanny Jastrzębskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Jednocześnie wnioskuję do Wysokiej Rady o wyróżnienie pracy doktorskiej, która w mojej ocenie wnosi pionierskie, bardzo istotne informacje na temat wpływu leków przeciwdepresyjnych na uzależniające działanie kokainy.

Prof. dr hab. n. med. Marek Kowalczyk
Specjalista neurolog i toksykolog

Warszawa, 03. 12. 2018r.