



UNIwersytet Jagielloński
COLLEGIUM MEDICUM
W KRAKOWIE

Wydział Farmaceutyczny

Kraków 29.11.2021

OCENA

rozprawy doktorskiej mgr Marty Anny Lech pod tytułem

„Ocena interakcji aripiprazolu, atypowego leku przeciwpsychotycznego z wybranymi lekami przeciwdepresyjnymi w szczurzych modelach schizofrenii”

(„Evaluation of interaction of aripiprazole, the atypical antipsychotic drug, with the selected antidepressants in the rat models of schizophrenia”)

przygotowanej pod opieką naukową dr hab. Zofii Rogóż, adiunkta w Zakładzie Farmakologii

Instytutu Farmakologii im. Jerzego Maja w Krakowie

Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska składa się ze spójnego tematycznie cyklu czterech prac oryginalnych, opublikowanych w latach 2019-2021 w czasopismach o istotnym współczynniku oddziaływania, łączny 5-letni IF=16,502. Zostały one opatrzone, odpowiednio przygotowanym, opracowaniem w języku polskim zgodnie z Zaleceniami Komisji Rady Naukowej Instytutu ds. prowadzenia czynności w sprawie nadania stopnia doktora, tj. spisem treści, wykazem skrótów, streszczeniem w języku polskim i angielskim, wprowadzeniem, zwięzłym opisem celu badań, zastosowanych metod, otrzymanych wyników oraz dyskusją zakończoną podsumowaniem i wnioskami. Całość wieńczy prawidłowo dobrana bibliografia w liczbie 103 pozycji, w większości z ostatnich 15-tu lat.

Cztery artykuły, będące podstawą ubiegania się o stopień doktora, są pracami wieloautorskimi. Do rozprawy zostały dołączone pisemne oświadczenia wszystkich współautorów. Wynika z nich, że Pani Marta Lech wykonała eksperymenty behawioralne u szczurów oraz biochemiczne w zebranych materiale tkankowym, przeprowadziła analizę merytoryczną wszystkich otrzymanych wyników oraz przygotowała manuskrypty. W każdej z tych publikacji Doktorantka zajmuje pozycję pierwszego autora.

Materiały zebrane w omawianej rozprawie dotyczą efektów farmakologicznych (behawioralnych i biochemicznych) skojarzonego podania nietypowego leku przeciwpsychotycznego aripiprazolu i wybranych leków przeciwdepresyjnych escitalopramu i mirtazapiny w szczyrzach modelach schizofrenii, modelujących objawy negatywne i kognitywne. Takie połączenie leków ma uzasadnienie kliniczne ze względu na możliwość obniżenia dawek, co wiąże się z osłabieniem ich działań niepożądanych, a także poszerzenia spektrum terapeutycznego. Zaś szerszy zakres terapeutyczny jest szczególnie istotny u pacjentów, u których schizofrenii towarzyszy depresja, a liczba takich pacjentów stanowi ok. 30% do 50% przypadków. Wyniki badań przedstawione w czterech artykułach, stanowiących podstawę nadania stopnia naukowego, stanowią cenne uzupełnienie badań przeprowadzonych dotychczas przez zespół Pani dr hab. Zofii Rogóż oraz innych badaczy.

Praca 1. Hereta M, Kamińska K, Rogóż Z (2019) Co-treatment with antidepressants and aripiprazole reversed the MK-801-induced some negative symptoms of schizophrenia in rats. *Pharmacological Reports*, 71, 768-773.

Celem przeprowadzonych badań była ocena działania aripiprazolu podanego jednorazowo oddzielnie i łącznie z escitalopramem lub mirtazapiną w teście interakcji socjalnych zaburzonych MK-801 u szczurów. Aripiprazol podano łącznie w najwyższej dawce nieaktywnej, tj. 0.03 mg/kg, natomiast escitalopram – 2.5, 5 i 10 mg/kg, a mirtazapinę – 2.5 i 5 mg/kg. Pozytywne działanie łącznego podania leków było osłabiane przez selektywnego antagonistę receptorów 5-HT_{1A} – WAY100635 i D₁ – SCH23390. Wynikom towarzyszą odpowiednie ryciny, ilustrujące w przejrzysty sposób istotne statystycznie różnice międzygrupowe. Uzyskane wyniki jasno dowodzą, że receptory 5-HT_{1A} i D₁ są zaangażowane w efekty łącznego działania aripiprazolu i wybranych leków przeciwdepresyjnych w łagodzeniu zaburzenia zachowania socjalnego, będącego jednym z objawów negatywnych schizofrenii. Bardzo proszę o wyjaśnienie czy zastosowano, w tych eksperymentach, dawki aktywne czy nieaktywne leków przeciwdepresyjnych?

Praca 2. Hereta M, Kamińska K, Białoń M, Wąsik A, Lorenc-Koci E, Rogóż Z (2020) Effect of combined treatment with aripiprazole and antidepressants on the MK-801-induced deficits in recognition memory in novel recognition test and on the release of monoamines in the rat frontal cortex. *Behavioural Brain Research* 393, 112769.

Celem eksperymentów był ocena działania aripiprazolu, podanego jednorazowo oddzielnie i łącznie z escitalopramem lub mirtazapiną w teście rozpoznawania nowego obiektu u szczurów, którym deficyty pamięci wywołano iniekcją MK-801 oraz na zewnątrzkomórkowe poziomy monoamin i ich metabolitów w korze czołowej szczurów. W teście behawioralnym wykazano, że jednoczesne podanie nieaktywnej dawki aripiprazolu (0.1 mg/kg) i escitalopramu (2,5 i 5 mg/kg) lub mirtazapiny (5 mg/kg)

osłabiło deficyty wywołane MK-801, a efekty te były osłabiane przez WAY100635 i SCH23390, chociaż żaden z tych wyników nie uzyskał poziomu statystycznej istotności. Ponadto, jednoczesne podanie aripiprazolu (0.3 mg/kg) z escitalopramem (5 mg/kg) znacząco podwyższało poziom noradrenaliny i serotoniny, pozostając bez zmian na poziom dopaminy; natomiast obniżyło poziomy metabolitów zarówno serotoniny jak i dopaminy. Jednoczesne zastosowanie aripiprazolu (0.3 mg/kg) i mirtazapiny (10 mg/kg) istotnie podwyższyło poziom noradrenaliny oraz poziomy metabolitów serotoniny i dopaminy, pozostając bez wpływu na poziom tych dwu amin. Przedstawione wyniki są zilustrowane odpowiednimi rycinami. Na ich podstawie można wnioskować o zaangażowaniu noradrenaliny lub serotoniny w efekty farmakologiczne wywoływane przez łączne podanie aripiprazolu z wybranymi lekami przeciwdepresyjnymi. Proszę o wyjaśnienie dlaczego użyto innych dawek w badaniach behawioralnych a innych w eksperymentach biochemicznych?

Praca 3. Lech MA, Leśkiewicz M, Kamińska K, Rogóż Z, Lorenc-Koci E (2021) Glutathione deficiency during early postnatal development causes schizophrenia-like symptoms and a reduction in BDNF levels in the cortex and hippocampus of adult Sprague-Dawley rats. *International Journal of Molecular Sciences*, 22, 6171

Badania w kolejnym artykule dotyczyły opracowania i walidacji neurorozwojowego modelu schizofrenii u szczurów, opartego na deficycie glutationu. Oceniono efekty podania wielokrotnego l-butionino-(S,R)-sulfoksyminy (BSO), inhibitora syntezy glutationu oraz 1-[2-bis(4-fluorofenilo)metoksy]etylo]-4-(3-dichlorowodorku fenylopropylo-piperazyny (GBR12909), inhibitora wychwytu zwrotnego dopaminy, pojedynczo i łącznie, szczurom we wczesnym okresie rozwoju poporodowego (p5-p16). Następnie wykonano analizę występowania deficytów zachowania, naśladujących objawy negatywne w schizofrenii, oraz ekspresji mRNA czynnika neurotroficznego pochodzenia mózgowego (BDNF) i jego białka w korze przedczołowej i hipokampie u młodych i dorosłych zwierząt. BSO podawany sam obniżył poziom białka BDNF oraz jego mRNA zarówno w korze przedczołowej, jak i hipokampie. Natomiast łączne podanie BSO i GBR12909 dodatkowo zmniejszyło mRNA BDNF i jego białko w korze przedczołowej, ale w hipokampie obserwowano obniżenie poziomu tylko białka BDNF. Zachowania podobne do objawów schizofrenii u szczurów oceniano w trzech punktach czasowych okresu dojrzewania (p30, p42-p44, p60-p62) i we wczesnej dorosłości (p90-p92) za pomocą: testu interakcji społecznych, testu rozpoznawania nowego obiektu i testu otwartego pola. Deficyty społeczne i poznawcze po raz pierwszy pojawiły się w średnim okresie dojrzewania i utrzymywały się aż do dorosłego wieku, zarówno u szczurów, którym podawano sam BSO, jak i w kombinacji z GBR12909. Zachowanie odpowiadające objawom pozytywnym u ludzi wystąpiło w średnim okresie dorastania tylko u szczurów traktowanych obydwoma substancjami. Tylko w tej drugiej grupie amfetamina nasilała istniejące objawy pozytywne w wieku dorosłym. Uzyskane

wyniki, zobrazowane przejrzystymi rycinami, dowodzą wiarygodności opracowanego, neurorozwojowego modelu schizofrenii, dzięki wykorzystaniu łącznego podania inhibitora syntezy glutationu i inhibitora wychwytu zwrotnego dopaminy we wczesnym okresie życia poporodowego. Tak traktowane zwierzęta odtwarzały objawy obserwowane u pacjentów ze schizofrenią.

Praca 4. Lech MA, Kamińska K, Leśkiewicz M, Lorenc-Koci E, Rogóż Z (2021) Impact of repeated co-treatment with escitalopram and aripipazole on the schizophrenia-like behaviors and BDNF mRNA expression in the adult Sprague-Dawley rats exposed to glutathione deficit during early postnatal development of the brain. *Pharmacological Reports*, 73, 1712-1723

Kontynuując badania efektów łącznego podania aripiprazolu z escitalopramem, w tej pracy, dokonano analizy działania kombinacji leków wykorzystując model neurorozwojowy, opisany w pracy 3, oparty o podanie samego BSO lub BSO łącznie z GBR12909 we wczesnym okresie postnatalnym. Aripiprazol (0.1 i 0.3 mg/kg) podawano łącznie z escitalopramem (5 mg/kg) raz dziennie przez 21 dni, rozpoczynając od 68 dnia życia. Wielokrotnie podawany sam aripiprazol w wyższej dawce, tj. 0.3 i/lub 1 mg/kg odwracał deficyty behawioralne w teście interakcji socjalnych i rozpoznawania nowego obiektu. Łączne podanie aripiprazolu z nieaktywną dawką escitalopramu również znosiło deficyty behawioralne w zastosowanych testach. Mierzone zmiany w poziomie BDNF i jego mRNA, w obu badanych strukturach tj. korze czołowej i hipokampie, nie były już tak jednoznaczne.

Praca zawiera odpowiednie ryciny jednoznacznie przedstawiające uzyskane wyniki.

Rozprawa doktorska mgr Marty Lech, przygotowana w formie pisemnego opracowania wyników opublikowanych w formie 4 artykułów oryginalnych, została przygotowana w sposób jasny i klarowny, również dzięki temu, że przedstawiony cykl został poddany wnikliwej i rzeczowej ocenie przez kompetentnych recenzentów wydawniczych. Polskojęzyczna część pracy przedstawia rozległą znajomość tematu przez Doktorantkę, która właściwie dobrała i zacytowała literaturę naukową z tego tematu. Opis metodyki jest skrótowy, ale na tyle precyzyjny, że można wnioskować o doskonałym opanowaniu przez mgr M. Lech warsztatu badawczego. Omówienie wyników i ich wspólna dyskusja świadczy o umiejętnościach analitycznych Autorki, a zebrane wnioski – o wartości merytorycznej rozprawy. Tym samym, można stwierdzić, że całość rozprawy odpowiada postawionym i zrealizowanym celom badawczym.

Doktorantka nie ustrzegła się w opracowaniu błędów gramatycznych, neologizmów (np. lokomotoryczność (str. 18, 20, 21), „niska dawka samo niedziałająca” (str. 20)), stosowaniu naprzemiennie określeń polskich i angielskich (np. nazwa chemiczna aripiprazolu str. 15 czy „wąchanie i grooming” str. 22), braku konsekwencji w stosowaniu wprowadzonych skrótów (np. SSRI, 5-HT (np. str. 16, 21, 24) czy błędów literowych.

Podsumowując stwierdzam, że przedstawiona do oceny rozprawa, w formie cyklu czterech artykułów oryginalnych, jest dowodem, iż mgr Marta Lech posiada umiejętność rozwiązywania problemów naukowych, wykazując potrzebną wiedzę oraz odpowiednie przygotowanie teoretyczne i praktyczne w zakresie poruszanych zagadnień, spełniając tym samym odpowiednie kryteria ustawowe. Dlatego przedkładam Wysokiej Radzie Naukowej Instytutu Farmakologii im. Jerzego Maja PAN w Krakowie wniosek o dopuszczenie Pani mgr Marty Lech do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Zakład Farmacji Klinicznej UJ CM
AWesołowska
prof. dr hab. Anna Wesołowska
Kierownik