



UNIwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

Katedra i Zakład Farmakoeconomiki i Farmacji Społecznej

ul. Rokietnicka 7
60-806 Poznań

tel. 061 854 68 95/94

fax 061 854 68 94

e-mail: elapharm@ump.edu.pl

Poznań, 29.11.2021

Ocena

rozprawy doktorskiej mgr Marty Anny Lech
z Zakładu Farmakologii Instytutu Farmakologii im Jerzego Maja
Polskiej Akademii Nauk

**pt. „Ocena interakcji arypiprazolu, atypowego leku przeciwpsychotycznego
z wybranymi lekami przeciwdepresyjnymi w szurzych modelach schizofrenii”**

Promotor: dr hab. Zofia Rogóż

Schizofrenia jest zaburzeniem neurorozwojowym, w patofizjologii choroby dużą rolę odgrywają czynniki genetyczne, epigenetyczne i stres psychospołeczny. Choroba głównie dotyczy ludzi młodych, a przyczyny jej powstania nie zostały jednoznacznie poznane, stąd od dawna budzą zainteresowania naukowców.

Wyniki niektórych badań (H. Jackson) sugerują, że schizofrenia jest chorobą mózgu wywołaną przez konkretne zmiany zlokalizowane w ośrodkach neurologicznych, a objawy choroby ujawniają się wskutek nieprawidłowego przebiegu procesów dojrzewania sieci neuronalnych w korze przedczołowej.

Obecnie wśród przyczyn schizofrenii największe znaczenie przypisuje się czynnikom endogennym - związanym z predyspozycją genetyczną, której udział w pojawieniu się choroby jest szacowany na 60-70%, a także czynnikom psychogennym oraz czynnikom somatycznym (procesy chorobowe i czynniki patogenne), które w efekcie prowadzą do zaburzeń centralnego układu nerwowego.

W leczeniu schizofrenii istotne jest łącznie właściwie dobranej farmakoterapii psychoterapii, psychoedukacji i terapii zajęciowej, a także przestrzeganie zaleceń lekarskich (compliance).

Celem farmakoterapii jest redukcja zachorowalności, śmiertelności m.in. przez ograniczenie częstości i ciężkości epizodów psychotycznych i poprawę jakości życia pacjentów dotkniętych tym schorzeniem. Obecnie w leczeniu schizofrenii stosuje się leki

antypsychotyczne mające mniejszy potencjał działań niepożądanych ze strony układu pozapiramidowego, a jednym z nich jest aripiprazol należący do leków przeciwpsychotycznych III generacji, który został zarejestrowany w Europie i w Polsce celem leczenia schizofrenii u dorosłych i młodzieży po 15 roku życia oraz do leczenia epizodów maniakalnych w przebiegu zaburzeń afektywnych dwubiegunowych typu I, a także w leczeniu podtrzymującym.

Unikalny profil receptorowy aripiprazolu (częściowy agonista receptorów dopaminergicznych D₂, oraz serotoninergetycznych 5HT_{1a}, w mniejszym stopniu działa na receptory D₃ i D₄, blokuje receptory 5-HT_{2a} i 5-HT_{2b}, ma niewielkie powinowactwo do receptorów adrenergicznych α_1 oraz histaminowych H₁) znajduje odzwierciedlenie w jego efekcie terapeutycznym i profilu tolerancji.

Zakładając, że pacjentom chorującym na schizofrenię często towarzyszy depresja, można uważać za celowe łączne podawanie leków przeciwpsychotycznych i przeciwdepresyjnych.

Biorąc pod uwagę powyższe fakty problematyka poruszona w przedstawionej do recenzji rozprawie doktorskiej, która dotyczy oceny efektów wynikających z podawania aripiprazolu w połączeniu z lekami przeciwdepresyjnymi (mirtazapina i escitalopram) u szczurów badanych w dwóch zwierzęcych modelach schizofrenii jest aktualna, nowatorska i w pełni uzasadniona.

Ważne były również zaplanowane badania pozwalające określić amplifikacje genu dla neurotroficznego czynnika pochodzenia mózgowego (BDNF), a także ocena ilości białka w korze czołowej i hipokampie szczura.

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska stanowi zbiór spójnych tematycznie czterech oryginalnych, opublikowanych prac:

1. Hereta M , Kamińska K, Rogóż Z. *Co-treatment with antidepressants and aripiprazole reversed the MK-801-induced same negative symptoms of schizophrenia in rats.* Pharmacological Reports 2019, 71, 768-773. doi:10.1016/j.pharep.2019.04.007. 5-letni współczynnik wpływu: 3,426
2. Hereta M, Kamińska K, Białoń M, Wąsik A, Lorenc-Koci E, Rogóż Z. *Effect of combined treatment with aripiprazole and antidepressants on the MK-801 - induced deficits in recognition memory in novel recognition test and on the re lease of monoamines in the rat frontal cortex.* Behavioural Brain Research 2020, 393, 112769. doi:10.1016/j.bbbr.2020.112769. 5-letni współczynnik wpływu: 3,518

3. Lech M.A, Leśkiewicz M, Kamińska K, Rogóż Z, Lorenc-Koci E. *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 2021, 22(12): 6171. doi:10.3390/ijms22126171. 5-letni współczynnik wpływu: 6,132
4. Lech M.A, Kamińska K, Leśkiewicz M, Lorenc-Koci E, Rogóż Z. *Impact of repeated cotreatment with escitalopram and aripiprazole 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 2021, doi:10.1007/s43440-021-00318-z. 5-letni współczynnik wpływu: 3,426.

w których Doktorantka jest pierwszym autorem/nie autorem do korespondencji.

Do oceny dołączono również krótkie opracowanie (49 str.) zawierające wykaz stosowanych skrótów, streszczenie w języku polskim i angielskim, wprowadzenie, cel pracy, metodykę, dyskusję, podsumowanie i wnioski, bibliografię wykorzystaną do wprowadzenia i dyskusji, oświadczenia współautorów opublikowanych prac, oraz artykuły naukowe stanowiące podstawę rozprawy doktorskiej.

Wyniki badań zostały przedstawione łącznie w opublikowanych pracach na 26 rycinach.

W części „wprowadzenie” (7 stron) Autorka krótko charakteryzuje schorzenie jakim jest schizofrenia, przedstawia znane w literaturze hipotezy (dopaminowa, glutaminianowa, neurodegeneracyjna i neurorozwojowa, deficyt poziomu glutationu), które mają prowadzić do wyjaśnienia nieprawidłowości zachodzących w OUN i pojawienia się objawów schizofrenii. Ostatnio duże zainteresowanie w badaniach naukowych budzi teoria neurorozwojowa (dobrze opisana przez Doktorantkę), która wskazuje, że infekcje bakteryjne i wirusowe u kobiety ciężarnej mogą prowadzić do destabilizacji układu odpornościowego; może dojść do uszkodzenia neuronów na skutek kaskady wielu procesów, co efekcie może wywołać zaburzenia psychiczne w dorosłym życiu. 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). Zauważa, że zaburzenia afektywne występują dość często wśród chorych na schizofrenię, co potwierdzają dane kliniczne, objawy pojawiają się w każdym okresie choroby - w okresie prodromalnym jak i w nawrotach, remisjach czy w fazie rezydualnej. Biorąc te dane pod uwagę depresja u chorych na schizofrenię stanowi duży

problem kliniczny. Autorka dysertacji potwierdza opinię (cytując dane kliniczne), iż koncepcje nowej formy terapii polegające na politerapii (podawanie leku przeciwpsychotycznego i przeciwdepresyjnego) są obecnie uważane za skuteczne, powodując złagodzenie objawów negatywnych z jednoczesnym eliminowaniem epizodów depresji.

W dalszej części wstępu Doktorantka przedstawia charakterystykę leków o różnych mechanizmach działania (arypiprazol, escitalopram, mirtazapina), które były przedmiotem badań.

Wprowadzenie pozwala utwierdzić Recenzenta w przekonaniu o celowości podjętych badań, a jednocześnie zwrócić uwagę na ogrom pracy jakiej podjęła się Doktorantka.

Cel pracy został sformułowany poprawnie. Autorka pracy założyła, że skojarzona terapia lekami przeciwdepresyjnymi - mirtazapiną i escitalopramem z lekiem przeciwpsychotycznym - arypiprazolem (w niskiej dawce) może prowadzić do odwrócenia deficytów socjalnych i kognitywnych u szczurów z objawami przypominającymi symptomy schizofrenii i zamierzała sprawdzić czy podanie tych kombinacji leków będzie modyfikowało stężenia BDNF w mózgu szczurów z wywołanymi objawami schizofrenii.

Dalszym celem pracy było sprawdzenie w 2 modelach - symptomatycznym i neurorozwojowym czy podanie określonych substancji zaburza równowagę redoks w mózgu szczura we wczesnym etapie życia postnatalnego.

Założone przez Doktorantkę cele były konsekwentnie realizowane w dalszej części pracy.

Material i dobrane metody badawcze zostały opisane w przedstawionych pracach przejrzysto i nie budzą zastrzeżeń. Badania prowadzone były w oparciu o dwa modele schizofrenii które opisano w pracy.

Badania wykonano na szczurach samcach, rasy Sprague-Dawley, warunki bytowania zwierząt określono właściwie. Test interakcji socjalnej, test rozpoznania nowego obiektu oraz test otwartego pola opisano i użyto do badań prawidłowo. Celem określenia wpływu łącznego podania arypiprazolu z lekami przeciwdepresyjnymi na poziom monoamin i ich metabolitów zastosowano mikrodializę u szczurów swobodnie poruszających się z użyciem wysokowydajnej chromatografii cieczowej (HPLC).

Na wykonanie badań uzyskano zgodę Komisji etycznej (przedstawiono w oryginalnych pracach).

Do oceny statystycznej prezentowanych wyników zastosowano w załączonych 4 pracach odpowiednio dobrane i sprawdzone testy i pakiety statystyczne.

Wyniki badań przedstawiono w krótkim streszczeniu, dyskusji i w załączonych pracach na bazie których autorka potwierdziła celowość prowadzonych badań.

Badania przeprowadzone w oparciu o dwa modele zwierzęcej schizofrenii (neurorozwojowy i symptomatyczny) wykazały wystąpienie deficytów zachowania u szczurów (w teście interakcji socjalnej, test rozpoznawania nowego obiektu) występujących w przebiegu schizofrenii. W modelu neurorozwojowym obserwowano redukcje ekspresji genu i ilości białka dla BDNF w wybranych strukturach mózgu.

Obserwowane deficyty zachowania u szczurów zostały odwrócone po zastosowaniu arypiprazolu w dużej dawce, czy po łącznym podaniu arypiprazolu i mirtazapiny lub escitalopramu zastosowanych w niskich dawkach.

Na bazie przeprowadzonych eksperymentów Kandydatka sformułowała 4 wnioski:

1. W modelu symptomatycznym łączne podanie leków przeciwdepresyjnych (ESC lub MIR) z lekiem przeciwpsychotycznym (ARI) nasiliło działanie przeciwpsychotyczne ARI w odwracaniu deficytów socjalnych i poznawczych u szczurów, które można uzasadnić wpływem na receptory serotoninowe 5-HT_{1a} i dopaminowe.
2. Wzrost zewnątrzkomórkowego poziomu serotoniny i noradrenaliny po jednorazowym łącznym podaniu ESC z ARI, oraz noradrenaliny po podaniu MIR i ARI mogą wskazywać na znaczenie tych wyników w terapii pozytywnych i kognitywnych symptomów schizofrenii.
3. W neurorozwojowym modelu schizofrenii wykazano ujawnienie się objawów przypominających schizofrenię już od 42 dnia życia szczurów, które utrzymywały się do zakończenia badań (91 dzień). Deficyty te były odwracane u szczurów dorosłych z zastosowaniem wysokiej dawki ARI, a także przez łączne podanie ARI z ESC.
4. W neurorozwojowym modelu schizofrenii u szczurów dorosłych wykazano obniżenie ekspresji mRNA dla BDNF, a ARI zastosowany w dużej dawce odwracał te zmiany. Łączne podanie niskiej dawki ARI z ESC powodowało podwyższenie ekspresji mRNA dla BDNF tylko w korze czołowej, ale nie w hipokampie szczura.

Dokładna lektura recenzowanej pracy nasuwa kilka uwag:

1. W załączonym oświadczeniu autorki prac dobrze byłoby dodać, iż 1 autor załączonych publikacji to ta sama osoba - Pani Hereta M, Lech M.A.
2. Załączone do opracowania piśmiennictwo nie zostało ponumerowane, co bardzo utrudnia identyfikację wyników z danymi literaturowymi.

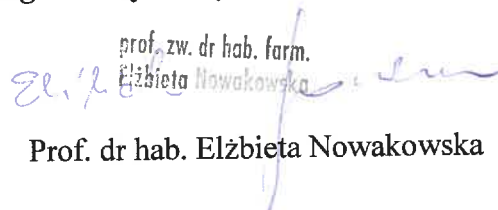
3. Praca zawiera trochę literówek, powtórzeń, czy niezręcznych sformułowań np. na str. 14 Autorka stosuje wyrażenie „zubożenie funkcji poznawczych” - lepiej użyć upośledzenie funkcji poznawczych, str. 32 – wnioski znalazłam dużo zawiłych sformułowań, błędów stylistycznych.
4. Zdania na temat wpływu neuroleptyków I generacji na funkcje poznawcze są podzielone np. wyniki metaanalizy Mishary i Godberga wskazują na niewielką poprawę funkcji poznawczych, ale wyniki te nie były skorelowane z objawami klinicznymi; natomiast część autorów (Medalia i wsp.) sugeruje, że obserwowane objawy niepożądane po lekach przeciwpsychotycznych I generacji (EPS) mogą finalnie niekorzystnie wpływać na funkcje poznawcze, a dodatkowo efekt antycholinergiczny tej grupy leków jest powiązany ze spadkiem uwagi, pamięci i funkcji wykonawczych (Minzenberg – Am. J. Psychiatri), stąd stwierdzenie autorki na str. 14 wymaga głębszej dyskusji.
5. Wniosek pierwszy wymaga przedyskutowania.
6. Dyskusja to konieczność konfrontacji własnych wyników z dostępną literaturą na dany temat, niepotrzebnie zamieszczono w tej części opis stosowanych metod badawczych.

Niezależnie od powyższych, drobnych niedociągnięć pracę oceniam bardzo pozytywnie. Doktorantka w pełni zrealizowała obszerny zakres badań.

Dysertacja ma charakter innowacyjny, może być źródłem informacji na temat celowości stosowania leków przeciwdepresyjnych z ARI w psychiatrii i stanowi oryginalne rozwiązanie zagadnienia naukowego. W przedstawionej do oceny rozprawie Doktorantka wykazała się dobrą znajomością teoretyczną zagadnień z zakresu tematu rozprawy doktorskiej. Dorobek naukowy Doktorantki w zakresie jakości i ilości publikacji, udziału w grantach jest imponujący.

Reasumując, uważam, że przedłożona do oceny praca doktorska spełnia wymogi stawiane rozprawom na stopień doktora wg. Ustawy o stopniach naukowych i tytułach naukowych art. 13 (Dz.U. 2003 nr 65 poz. 595 ze zm.), Rozporządzenie Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego (Dz.U. z 2017 r. poz.1789), oraz w Rozporządzeniu Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z dnia 19 stycznia 2018 r. oraz Dz.U.2021 art. 187- Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce i zwracam się z wnioskiem do Rady Naukowej Instytutu Farmakologii im. Jerzego Maja Polskiej Akademii Nauk o dopuszczenie Pani mgr Marty Anny Lech do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

prof. zw. dr hab. farm.
Elżbieta Nowakowska



Prof. dr hab. Elżbieta Nowakowska