



UNIWERSYTET JAGIELLOŃSKI
COLLEGIUM MEDICUM
W KRAKOWIE

Wydział Farmaceutyczny

Kraków 1.02.2024

OCENA

rozprawy doktorskiej mgra Adama Wojtasa pod tytułem

”**The effects of novel psychoactive substance, 25B-NBOMe on the central nervous system in comparison to psilocybin**”

przygotowanej pod opieką naukową prof. dr hab. Krystyny Gołembiewskiej

w Zakładzie Farmakologii Instytutu Farmakologii im. Jerzego Maja PAN w Krakowie

Postawiony przez Doktoranta cel badawczy dotyczy porównawczej oceny właściwości farmakologicznych wybranych substancji halucynogennych, tj. 25B-NBOMe i psylocybinę przy wykorzystaniu szczurzych modeli neurochemicznych i behawioralnych oraz neurotoksyczności *in vitro*. Uzyskane efekty dla psylocybinę porównano dodatkowo z aktywnością ketaminy, której S-enancjomer został niedawno wprowadzony do terapii lekoopornej depresji. Badania dotyczące 25B-NBOMe, psychoaktywnego agonisty receptorów 5-HT_{2A}, należącego do grupy pochodnych fenyloetyloaminy, przeprowadzono po jego jednorazowym i wielokrotnym (raz dziennie przez 7 dni) stosowaniu. Uważam, że cel główny oraz cele cząstkowe pracy zostały postawione przez Doktoranta poprawnie, a wybór tematyki jest uzasadniony i istotny z punktu widzenia poznawczego. Wagę podjętego tematu uzasadnia fakt, że zarejestrowanym, szybko działającym lekiem w terapii depresji jest jak dotąd S-ketamina, mająca szereg niekorzystnych działań niepożądanych i ograniczeń w stosowaniu. Stąd wyjaśnianie biochemicznych mechanizmów odpowiedzialnych za procesy mózgowie zachodzące pod wpływem substancji psychodelicznych, postrzeganych jako katalizatory procesów psychicznych, może przyczynić się do ich terapeutycznego zastosowania.

Zakład Farmacji Klinicznej

ul. Medyczna 9, 30-688 Kraków, tel. +48 12 620 56 54

www.farmacja.cm.uj.edu.pl

Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska została oparta o cykl czterech prac oryginalnych (trzy recenzowane artykuły w czasopismach z listy filadelfijskiej, tj. *Neurotoxicity Research*, *Neuropharmacology* i *International Journal of Molecular Sciences* oraz jeden w postaci tzw. pre-print-u), opublikowanych w latach 2021-2023. Sumaryczny współczynnik wpływu tych prac wynosi 15,459, co przekłada się na 350 punktów ministerialnych. We wszystkich artykułach mgr Adam Wojtas jest pierwszym autorem, a załączone Jego jak i wszystkich Współautorów oświadczenia wskazują, iż Doktorant miał udział w stworzeniu ogólnej koncepcji badań, wykonaniu we współpracy części doświadczalnej, analizie wyników oraz przygotowaniu manuskryptów do druku. Rozprawa doktorska, napisana w języku angielskim, wprowadza czytelnika w tematykę substancji psychodelicznych, na ich tle przedstawia cele przeprowadzonych eksperymentów oraz dyskutuje uzyskane wyniki. Opatrzona jest także streszczeniem w języku polskim i angielskim, listą skrótów, 7 wnioskami oraz prawidłowo dobraną bibliografią w liczbie 196 pozycji. I tylko przy pozycji nr 73 brakuje daty wejścia i pobrania pliku ze strony internetowej.

W części teoretycznej mgr Adam Wojtas zawarł szeroki i dokładnie przeanalizowany przegląd danych literaturowych oraz aktualny stan wiedzy dotyczący chemicznej klasyfikacji substancji psychodelicznych, skupiając się na grupie fenyloetyloamin, do której należy wybrany do badań związek 25B-NBOMe, roli receptora 5-HT_{2A} w ich efektach oraz właściwościach farmakologicznych w porównaniu z opisanymi w literaturze efektami psylocybiny, w tym przeciwdepresyjnymi.

Część doświadczalna, obejmująca metodykę i uzyskane wyniki, jest szczegółowo opisana w opublikowanych artykułach. Dobór metod dowodzi wnikliwego podejścia Doktoranta do postawionego problemu badawczego, a zastosowane modele świadczą o Jego należyтым przygotowaniu do pracy naukowej. W artykułach zaprezentowano wyniki uzyskane w modelu mikrodializy *in vivo* mierząc poziomy amin katecholowych, acetylocholino, glutamianu i GABA w korze czołowej, hipokampie, jądrze półleżącym, prążkowie i jądrze siatkowym wzgórza, a więc strukturach zaangażowanych w procesy emocjonalne i motoryczne. W oparciu o uzyskane wyniki neurochemiczne Doktorant analizował dane zebrane w modelach behawioralnych (tj. test otwartego pola, uniesionego labiryntu krzyżowego, rozpoznawania nowego obiektu, wymuszonego pływania, light-dark box i Wet Dog Shake) oraz Comet assay umożliwiającą ocenę neurotoksyczności *in vitro*.

Całościowa dyskusja uzyskanych wyników, przedstawiona w autoreferacie, jest przeprowadzona w sposób interesujący, wskazując na spójny i dobrze przemyślany cykl badań eksperymentalnych; pozwala ona zapoznać się z samodzielną interpretacją uzyskanych przez Doktoranta wyników. Omówione zostały w niej, z podziałem na odpowiednie podrozdziały, wszystkie główne obserwacje poczynione przez mgra Adama Wojtasa w kontekście dostępnych danych literaturowych. Dyskusję charakteryzuje świadoma i krytyczna analiza uzyskanych danych oraz zasługująca na uwagę ostrożność w ich interpretacji. Oceniając ten rozdział stwierdzam, że efekty

realizacji tego zadania, tak istotnego w pracy naukowej, świadczą o wiedzy merytorycznej Doktoranta, Jego zdolnościach analitycznych oraz umiejętności przejrzystego przedstawiania Swoich przemyśleń. Zebrane wnioski wskazują na realizację założonych celów, są oryginalne i stanowią zbiór logicznie i wzajemnie się uzupełniających danych o dużej wartości poznawczej.

Poniżej przedstawiam pytania/uwagi do dyskusji, które są wyrazem zainteresowania jakie wzbudziła lektura rozprawy:

1. praca A1 – czy Pan Magister podjąłby się próby wyjaśnienia powtarzającego się, najsilniejszego efektu pojedynczej dawki 0.3 mg/kg związku 25B-NBOMe, podwyższającej uwalnianie dopaminy, serotoniny, glutaminianu w badanych strukturach, tj. korze czołowej, prążkowi, jądrze półleżącym, podczas gdy niższa i wyższe dawki działały słabiej? Tym bardziej, że ta dawka w inny sposób niż pozostałe modulowała (osłabiała) uwalnianie acetylocholino, ale tylko w korze czołowej. Czy można takie działanie wiązać z wyższą selektywnością tej dawki, przynajmniej w porównaniu z dawkami wyższymi 25B-NBOMe?;
2. praca A1 – dlaczego w teście rozpoznawania nowego obiektu zbadano tylko dawkę 3 mg/kg 25B-NBOMe, nie mającą wpływu na poziom uwalnianej acetylocholino w korze czołowej i słabszy efekt w jądrze półleżącym niż dawka niższa 0.3 mg/kg, badana w innych testach? Ponadto zastosowano w tym teście skopolaminę, która nie wywołała deficytu pamięci, a poprawiała funkcje kognitywne osłabiane przez 25B-NBOMe. Dane przedstawione na Fig. 7a-c, zdaniem recenzenta, powinny być policzone analizą dwuczynnikową ANOVA zamiast jednoczynnikowej;
3. prace A1 i A4 – czy i w jaki sposób można wytłumaczyć niejednakowe efekty 25B-NBOMe i psylocybiny na poziom uwalniania acetylocholino, skoro łączy je Doktorant z aktywacją receptorów 5-HT_{2A}, wobec których obydwa związki wykazują aktywność agonistyczną? Udział jakich innych receptorów można brać pod uwagę w tym działaniu?;
4. wniosek 6 w rozprawie – czy i w jaki sposób można wytłumaczyć brak działania przeciwlękowego psylocybiny w teście uniesionego labiryntu krzyżowego, podczas gdy efekt ten był mierzony w teście otwartego pola? Wydaje się, że obydwa użyte modele oparte są o ten sam rodzaj reakcji lękowej, tj. strach przed otwartą przestrzenią i podwyższeniem platformy. Dlaczego zastosowano różne przedziały czasowe w tych testach? Jakie wymiary miała centralna strefa otwartego pola służąca do oceny działania przeciwlękowego?

Zwracam również uwagę na fakt, że rozprawa doktorska została edytorsko opracowana w sposób bardzo staranny z nielicznymi błędami literowymi (słownie czterema na str. 5, 6, 38, 40). Jedyne z obowiązku recenzenta wskazuję na brak konsekwencji we wprowadzaniu i stosowaniu skrótów oraz brak w spisie skrótów np: WDS (wet dog shake), Nacc (nucleus accumbens), SERT (serotonin

transporter), VTA (ventral tegmental area), RNT (reticular nucleus of thalamus), RN (raphe nuclei), brak nazwy chemicznej dla związku WAY-100635. Można odnieść wrażenie, że przy składaniu tekstu jedna strona z wykazem skrótów zaginęła.

Rozprawa doktorska mgra Adama Wojtasa obejmuje szeroko zaplanowane i pracochłonne badania o istotnej wartości poznawczej. W związku z powyższym stwierdzam, że przedstawiona do oceny rozprawa doktorska, w formie cyklu powiązanych tematycznie artykułów oryginalnych, jest dowodem, iż mgr Adam Wojtas posiada umiejętności rozwiązywania problemów naukowych, wykazując wiedzę oraz odpowiednie przygotowanie teoretyczne i metodyczne w zakresie poruszanych zagadnień, spełniając tym samym odpowiednie kryteria ustawowe określone w art.187 ustawy z dnia 20 lipca 2018r Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U.2018, poz.1668 z późn. zm). Na tej podstawie przedkładam Wysokiej Radzie Naukowej Instytutu Farmakologii im. Jerzego Maja PAN w Krakowie wniosek o dopuszczenie Pana mgra Adama Wojtasa do dalszych etapów postępowania w sprawie nadania stopnia doktora w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu, dyscyplinie nauki medyczne.

Prof. dr hab. Anna Wesołowska

