

## Recenzja

### **Rozprawy doktorskiej mgr inż. Moniki Herian pt. „Własności farmakologiczne związku halucynogennego 25I-NBOMe”**

wykonanej w Zakładzie Farmakologii, Zespół II, Instytutu Farmakologii im. Jerzego Maja  
Polskiej Akademii Nauk w Krakowie oraz w Zespole Analiz Toksykologicznych i  
Farmaceutycznych, Wydział Chemii Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie

#### **Tematyka rozprawy i uzasadnienie podjęcia tematu badań**

Intensywny wzrost liczby substancji psychoaktywnych wprowadzonych na rynek narkotykowy obserwuje się już od końca lat dziewięćdziesiątych XX wieku. Wszystkie nowo pojawiające się związki określa się mianem nowych substancji psychoaktywnych (NPS). Związki z grupy NPS są głównymi składnikami „dopalaczy”, które są bardzo popularne zwłaszcza wśród młodych osób. Ostatnie dane Głównego Inspektora Sanitarnego (2019 rok) sugerują, że tempo pojawiania się zatruć tymi substancjami powoli maleje, ale wciąż każdego roku do nielegalnego obrotu trafiają nowe substancje psychoaktywne.

Substancje halucynogenne (psychozomimetyczne, psychodeliczne) są jedną z grup NPS. Zgodnie z ich chemiczną budową, psychodeliki można podzielić na pochodne fenyloetyloaminy podobne do meskaliny, pochodne tryptaminy podobne do psylocybiny oraz mała podklasa pochodnych ergoliny podobnych do LSD (Fantegrossi et al. 2008). Chociaż wymienione grupy związków różnią się budową chemiczną wszystkie wywołują głębokie zmiany w świadomości, percepcji i nastroju (Halberstadt 2015).

Od 2010 roku na rynku NPS obecna jest nowa grupa silnych syntetycznych halucynogenów pochodnych N-(2-metoksybenzylo)-2,5-dimetoksyfenetylaminy (NBOMe), agonistów receptora serotoninowego 5-HT<sub>2A</sub>, często stosowana jako legalny substytut LSD (UNODC 2016). Obecnie związki NBOMe są w większości niekontrolowane na całym świecie, chociaż są nielegalne tylko w niektórych krajach jak Nowa Zelandia, Polska, Szwecja, Izrael (Derowi, 2012; Zuba et al., 2012) czy Wielkiej Brytanii (od 10 czerwca 2013; Home Office, 2013). Trzy najbardziej dostępne na rynku NBOMe to 25B-NBOMe, 25C-NBOMe i 25I-NBOMe (Ralston i Davies, 2013) posiadające w swojej cząsteczce odpowiednio podstawnik bromu, chloru czy jodu.

Pochodna jodu, 25I-NBOMe (4-jodo-2,5-dimetoksy-N-(2-metoksybenzylo)fenetyloamina), jest łatwo dostępna dla użytkowników narkotyków (Lawn i wsp. 2014). Niestety do tej pory opublikowano niewiele badań oceniających jej toksyczność ostrą i przewlekłą, wpływ na psychikę i zachowanie oraz potencjał uzależniający. Z obserwacji klinicznych osób, które zażyły tę substancję wynika, że ma ona działanie halucynogenne i może wywoływać ostre pobudzenie, dezorientację, intensywne omamy słuchowe i wzrokowe, agresję oraz samookaleczenia (Dziennik Urzędowy UE, 2015). Biorąc pod uwagę te dane należy stwierdzić, że wybór tematu rozprawy doktorskiej dotyczący oceny działania farmakologicznego 25I-NBOMe jest trafny, nowatorski oraz istotny ze względów poznawczych i społecznych biorąc pod uwagę, że NBOMe, a szczególnie związek 25I-NBOMe stosowany jest rekreacyjnie jako zamiennik LSD oraz cechują się wysoką szkodliwością dla zdrowia.

Rozprawa doktorska mgr inż. Moniki Herian przedstawia wyniki badań przedklinicznych dotyczące mechanizmu działania i neurotoksyczności związku 25I-NBOMe. Praca została wykonana pod kierunkiem naukowym prof. dr hab. Krystyny Gołombiowskiej jako promotora dyscypliny I - farmakologia oraz pod kierunkiem dr hab. Katarzyny Madej, promotora dyscypliny II - chemii. Praca doktorska powstała w ramach Środowiskowych Studiów Doktoranckich w projekcie „Interdyscyplinarność dla medycyny innowacyjnej” InterDokMed, realizowanym w ramach Programu Operacyjnego Wiedza Edukacja Rozwój 2014-2020, współfinansowanym ze środków Europejskiego Funduszu Społecznego. Praca była finansowana również z funduszy pochodzących z projektu OPUS 11 Narodowego Centrum Nauki (nr projektu: 2016/21/B/NZ7/01131), oraz z działalności statutowej Zakładu Farmakologii, Instytutu Farmakologii im. Jerzego Maja Polskiej Akademii Nauk w Krakowie.

### **Charakterystyka rozprawy**

Rozprawa doktorska mgr inż. Moniki Herian składa się 6 rozdziałów napisanych w języku polskim, z wyjątkiem anglojęzycznej wersji streszczenia. Ta część pracy zakończona jest spisem piśmiennictwa.

Pozostała część rozprawy doktorskiej stanowią załączniki, takie jak oryginalne wersje publikacji stanowiących podstawą rozprawy doktorskiej oraz oświadczenia Doktorantki i współautorów prac. Oświadczenia dotyczą informacji o indywidualnym wkładzie autorów w powstawanie prac wchodzących w skład zbioru i zgodę na wykorzystanie prac w postępowaniu doktorskim. Przedstawione dokumenty wskazują, że wszyscy współautorzy wyrazili zgodę na wykorzystanie publikacji w postępowaniu doktorskim mgr inż. Moniki Herian.

Dysertację rozpoczyna **Spis treści**, w którym na pierwszym miejscu zamieszczono spis publikacji stanowiących podstawę rozprawy doktorskiej, następnie wykaz stosowanych skrótów oraz streszczenie w języku polskim i angielskim. Praca doktorska powstała bowiem jako zbiór czterech spójnych tematycznie prac doświadczalnych, które zostały opublikowane na łamach czasopism z listy filadelfijskiej takich jak: Neurotoxicity Research, Pharmacological Reports, Psychopharmacology oraz Scientific Reports, o łącznym współczynniku wpływu równym 16,408. Wszystkie prace powstały w latach 2019 - 2022. Czasopisma w których zamieszczono publikacje są dobrze rozpoznawalne i cenione w

środowisku farmakologów zajmujących się poszukiwaniem/zgłębianiem mechanizmów leków działających na ośrodkowy układ nerwowy. Ponadto, we wszystkich publikacjach stanowiących podstawę dysertacji Doktorantka jest pierwszym autorem. Znajduje to potwierdzenie w oświadczeniu współautorów oraz samej Doktorantki. Dominujący (45 – 50%) wkład mgr inż. Moniki Herian w powstawaniu publikacji polegał na przeprowadzeniu doświadczeń behawioralnych i biochemicznych/immunohistochemicznych, uczestnictwie w wykonaniu analiz spektrometrii mas oraz opracowaniu i przygotowaniu manuskryptów. Zatem, zakres obowiązków przedstawiony powyżej świadczy o dużym zaangażowaniu i samodzielności Doktorantki.

W dysertacji następnie zamieszczone są **Streszczenie w języku polskim i angielskim**, które nie budzą zastrzeżeń.

Zasadniczą część rozprawy stanowi rozdział (I), noszący tytuł **Wstęp**. Ta część pracy jest wprowadzeniem do podjętych badań. Doktorantka charakteryzuje tutaj nowe substancje psychoaktywne, rodzaje i własności farmakologiczne substancji halucynogennych przechodząc do bardziej szczegółowego omówienia własności i toksyczności związków NBOMe u ludzi, wyników badań *in vitro* tych związków oraz ich wpływ na zachowanie ludzi i zwierząt oraz ich toksyczność *in vivo*. Wykorzystując dane z piśmiennictwa Doktorantka przedstawiła analizę toksykologiczną przedstawiciela grupy NBOMe, związku 25I-NBOMe w organizmie ludzi (badania *post mortem*) oraz jego metabolizm. Ostatnia część Wstępu, która w moim rozumieniu nie bardzo pasuje do powyższej charakterystyki, dotyczy możliwości terapeutycznych związków halucynogennych.

Podsumowując tą część pracy należy dodać, że jest ona napisana ciekawie. Stanowi logiczny ciąg uzupełniających się informacji z wykorzystaniem tematycznego piśmiennictwa z ostatnich lat. Zakres merytoryczny przedstawiony we Wstępie dobrze koresponduje ze sformułowanym celem pracy. Świadczy o przygotowaniu Doktorantki do rozwiązania podjętego zadania badawczego.

Następnie Doktorantka sformułowała **Cel pracy (II)**, który zakłada scharakteryzowanie własności farmakologicznych i neurotoksyczności związku 25I-NBOMe, przedstawiciela grupy NBOMe. Doktorantka do badań tego związku wybrała model zwierzęcy (szczury) i postawiła szereg szczegółowych celów badawczych. Cele te obejmują wpływ jednorazowego oraz wielokrotnego podania 25I-NBOMe na a) na zachowanie zwierząt, b) neuroprzeżywalność mózgową oraz c) podtypy receptorów serotoninowych (metoda mikrodializy mózgu), d) neurotoksyczność *in vitro* (oksydacyjne uszkodzenie jądrowego DNA), e) dystrybucję i akumulację 25I-NBOMe w różnych obszarach mózgu.

W rozdziale **Materiały i metody (metodyka) (III)** Doktorantka krótko przedstawia metodykę i wykorzystane w pracy materiały. W testach behawioralnych oceniła aktywność halucynogenną (otrząpywanie głową i ciałem), zmiany w ruchliwości zwierząt (test otwartego pola), deficyty poznawcze (test rozpoznawania nowego obiektu) oraz aktywność pro- lub przeciwłękową (test jasno/ciemnego pudełka). Do określenia zmian w zewnątrzkomórkowym poziomie dopaminy, serotoniny, glutamianu i acetylocholino w takich strukturach mózgu jak kora czołowa, prążkowie czy jądro półleżące przegrody użyto techniki mikrodializy mózgu. Do badania neurotoksyczności mózgu wykorzystano test kometkowy a następnie dokonano detekcji sygnału apoptotycznego. Oznaczenia zawartości związku w osoczu krwi i mózgu dokonano techniką spektrometrii mas z pułapka jonową. Tak więc wykorzystanie

różnorodnych technik i testów pozwoliło na kompleksowa ocenę działania 25I-NBOMe. Wykorzystanie wyżej wymienionych metod badawczych świadczy o dobrym przygotowaniu Doktorantki do dalszego prowadzenia samodzielnych badań.

W rozdziale **Wyniki** (rozdział IV) Doktorantka na 10 stronach przedstawiła najważniejsze osiągnięcia badawcze swojej pracy doktorskiej wzbogacone 6 rycinami. Ta część pracy podzielona jest na podrozdziały, które dotyczą odrębnej puli badań i zaopatrzone są w odnośniki do publikacji, w której te badania zostały przedstawione. Ta część pracy kończy się podsumowaniem wyników, która w sposób zbiorczy (5 punktów z licznymi podpunktami) przedstawia najważniejsze osiągnięcia pracy.

Następny rozdział pracy to **Dyskusja** (rozdział 5). W tej części Doktorantka omówiła pokrótce wyniki przedstawione w poszczególnych publikacjach. Dyskusja zawiera 3 ryciny, które w obrazowy sposób wspomagają zrozumienie uzyskanych wyników. Z **publikacja 1** wynika, że jednorazowego podanie 25I-NBOMe zwiększa uwalnianie glutamianu i monoamin w korze czołowej oraz wywołuje aktywność halucynogenną u szczurów. Autorzy sugerują, że w ten mechanizm działania 25I-NBOMe włączone są receptory 5-HT<sub>2A</sub>, chociaż, moim zdaniem dla potwierdzenia tej koncepcji można było zastosować antagonistę tego receptora. **Publikacja 2** dotyczy zaangażowania korowych receptorów serotoninowych w działanie 25I-NBOMe po jednorazowym podaniu. Badania wykazały, że receptory 5-HT<sub>2A</sub> i 5-HT<sub>2C</sub>, ale nie 5-HT<sub>1A</sub> w korze czołowej są włączone w uwalnianie glutamianu i aktywność halucynogenną tej substancji. W **publikacji 3** Doktorantka przedstawiła wyniki dotyczące wpływu wielokrotnego podania 25I-NBOMe na neuroprzebieżność i zachowanie zwierząt. Wykazała rozwój tolerancji na efekt halucynogeny oraz uwalnianie neuroprzebieżników po wielokrotnym podaniu tego związku, która może wynikać ze zmian w sygnalizacji receptora 5-HT<sub>2A</sub> w korze czołowej. **Publikacja 4** dotyczy działania neurotoksycznego i zawartości 25I-NBOMe w mózgu szczura. Prawdopodobnie efekty te wynikają z zaburzonej przez ten związek homeostazy i zmian w uwalnianiu neuroprzebieżników (dopaminy, glutamianu), które generują wolne rodniki powodując oksydacyjne uszkodzenie jądrowego DNA, co może prowadzić do zmian strukturalnych w mózgu.

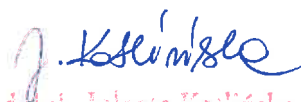
Dyskusja została przeprowadzona pod względem merytorycznym bardzo dobrze. Co więcej, uwzględniono w niej wszystkie ważniejsze dla pracy wątki. Doktorantka doskonale omówiła wyniki zawarte w publikacjach, łącząc je w logiczny ciąg informacji. Należy podkreślić, że publikacje będące przedmiotem rozprawy zostały wcześniej ocenione pozytywnie przez niezależnych międzynarodowych ekspertów.

W rozdziale szóstym **Podsumowanie** pracy i **wnioski** Doktorantka w 5 punktach przedstawiła wnioski wynikające z badań dotyczących farmakologicznego działania syntetycznego związku halucynogennego 25I-NBOMe. Dołączona rycina podsumowuje zmiany powstałe w ośrodkowym układzie nerwowym na skutek zaburzenia funkcji receptora serotoninowego 5-HT<sub>2A</sub> przez 25I-NBOMe.

Kolejny, siódmy rozdział przedstawia **Bibliografię** (145 pozycji) użytą we Wstępie oraz w Dyskusji. Spis piśmiennictwa zawiera w większości aktualne publikacje (wyłącznie anglojęzyczne), jest przedstawiony alfabetycznie wraz z podaniem numery doi. każdej publikacji. Ta część pracy zakończona jest podaniem stron internetowych (3), z których zaczerpnięto informacje przedstawione w pracy.

Podsumowując, przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska mgr inż. Moniki Herian ma charakter nowatorski, wnosi istotny wkład w farmakologiczną wiedzę na temat działania nowej substancji psychoaktywnej (halucynogennej) – 25I-NBOMe. Praca ma istotne znaczenie kliniczne. Napisana jest poprawnym językiem polskim. Badania są prawidłowo wykonane, charakteryzują się dużym stopniem złożoności i trudności w wykonaniu. Cele i założenia przedstawione przez Doktorantkę zostały osiągnięte. Nie mam zasadniczych uwag krytycznych dotyczących wartości pracy.

Zatem z całym przekonaniem stwierdzam, że rozprawa doktorska, której autorką jest mgr inż. Monika Herian spełnia wymagania stawiane rozprawom doktorskim przez Ustawę z dnia 20 lipca 2018 r. - Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. 2020 r. poz. 1668 z późn. zm.). Dlatego stawiam wniosek do Wysokiej Rady Instytutu Farmakologii im. Jerzego Maja Polskiej Akademii Nauk w Krakowie o dopuszczenie Pani mgr inż. Moniki Herian do dalszych etapów przewodu doktorskiego.



Prof. dr hab. Jolanta Kotlińska  
Katedra i Zakład Farmakologii  
z Farmakodynamiką  
Uniwersytetu Medycznego w Lublinie  
tel.: (081) 535-73-91