



Prof. dr hab. Kinga Sałat
Katedra Farmakodynamiki
Wydział Farmaceutyczny
Collegium Medicum
Uniwersytet Jagielloński
Ul. Medyczna 9, 30-688 Kraków

Kraków, 1.02.2024

Recenzja
rozprawy doktorskiej mgr Agaty Ciechanowskiej pt.
„PORÓWNANIE ZMIAN IMMUNOLOGICZNYCH PO USZKODZENIU
OŚRODKOWEGO I OBWODOWEGO UKŁADU NERWOWEGO ORAZ
ZBADANIE WPŁYWU FARMAKOLOGICZNEJ MODULACJI
WYBRANYCH CHEMOKIN NA TRANSMISJĘ NOCYCEPTYWNĄ U
MYSZY”,

wykonanej w Zakładzie Farmakologii Bólu Instytutu Farmakologii im. Jerzego Maja Polskiej Akademii
Nauk w Krakowie pod kierunkiem prof. dr hab. n. med. Joanny Miki

1. Podstawa formalna opracowania recenzji:

Recenzja została opracowana na zamówienie Dyrektora Instytutu Farmakologii im. Jerzego Maja Polskiej Akademii Nauk w Krakowie, prof. dr hab. Małgorzaty Filip, na podstawie Uchwały Nr 17/V/23 Rady Naukowej Instytutu Farmakologii im. Jerzego Maja Polskiej Akademii Nauk w Krakowie z dnia 13 grudnia 2023 r.

2. Tematyka rozprawy i uzasadnienie podjęcia tematu badań

Zaburzenia funkcji układu nerwowego, pomimo dostępności zaawansowanych technik diagnozowania uszkodzeń i nowoczesnych metod postępowania terapeutycznego, wciąż stanowią duże wyzwanie, zarówno dla klinicystów, jak i naukowców. Złożoność patomechanizmów powstawania zmian w obrębie ośrodkowego i obwodowego układu nerwowego sprawia, że dostępne terapie są mało skuteczne. To z kolei uzasadnia potrzebę poszukiwania nowych celów molekularnych dla leków ograniczających występujące w układzie nerwowym uszkodzenia.

Wywołane urazem uszkodzenia mózgu to jedna z wiodących przyczyn zgonów, bądź trwałego inwalidztwa pacjentów na całym świecie. Podobnie jak one, uszkodzenia nerwów obwodowych wynikające z działania czynników mechanicznych, chemicznych i biologicznych, stanowią podłoże zmian, m.in. o charakterze neuropatycznym, które to dolegliwości objawiają się jako dotkliwy, oporny na leczenie i wyniszczający ból. Dolegliwościom bólowym bardzo często towarzyszą problemy ze snem oraz inne zaburzenia, mogące w istotny sposób obniżyć jakość życia pacjenta.



Badania naukowe dowodzą, że uszkodzenia układu nerwowego mogą powstawać na drodze różnych mechanizmów - te same procesy inicjujące rozwój zmian można zaobserwować w różnych zaburzeniach układu nerwowego; z drugiej strony, do powstania jednego zespołu przyczynić się mogą różne mechanizmy. W związku z tym, istotne jest zidentyfikowanie mechanizmów leżących u podłoża tych zmian u poszczególnych pacjentów, a skuteczne leczenie powinno być nastawione na takie postępowanie, które trwale zablokuje lub przynajmniej znacząco ograniczy mechanizmy generujące te zaburzenia. Leczenie uszkodzeń ośrodkowego i obwodowego układu nerwowego jest zatem ogromnym wyzwaniem klinicznym, co wynika ze złożoności mechanizmów powstawania tych zaburzeń oraz nakładania się na te fizyczne zmiany dodatkowych czynników psychologicznych - emocjonalnych. Skomplikowane molekularne mechanizmy rozwoju zaburzeń układu nerwowego nie zostały w pełni poznane, jednak w świetle badań przedklinicznych i klinicznych ostatnich lat, istotną rolę w ich patogenezie przypisuje się czynnikom immunologicznym oraz wzajemnej interakcji pomiędzy komórkami neuronalnymi i immunologicznymi.

Problematykę związku uszkodzeniowych zaburzeń obserwowanych w układzie nerwowym z funkcją układu chemokinowego i zmianami w obrębie układu immunologicznego podejmuje rozprawa doktorska mgr Agaty Ciechanowskiej. Praca ta wykonana została pod kierownictwem naukowym prof. dr hab. n. med. Joanny Miki. Przedstawione w pracy badania były realizowane w ramach trzech projektów: ERA-NET NEURONCOFUND/1/LEAP/15/1 Narodowego Centrum Badań i Rozwoju oraz OPUS 2016/21/B/NZ4/00128 i OPUS 2021/43/B/NZ7/00230 Narodowego Centrum Nauki.

3. Charakterystyka rozprawy

Rozprawa napisana jest w języku polskim, ma formę cyklu pięciu powiązanych tematycznie oryginalnych artykułów naukowych o łącznym współczynniku *Impact Factor* równym 22.695. Rozprawa składa się z 12 rozdziałów, w tym obszernego spisu literatury, obejmującego 337 pozycji z zakresu neurobiologii i farmakologii. Spis literatury został zaprezentowany zgodnie z kolejnością cytowania w tekście. W przeważającej części zawiera on najnowsze prace opublikowane w języku angielskim, w tym kilka prac zespołu, w którym pracuje Doktorantka. Wykaz literatury zredagowany został jednolicie i bez większych błędów.

Całość pracy doktorskiej przedstawiona jest na 179 stronach. Część rozprawy stanowią kserokopie pięciu publikacji będących podstawą pracy doktorskiej; dołączono też oświadczenia współautorów tych prac oraz uchwały II Lokalnej Komisji Etycznej ds. Doświadczeń na Zwierzętach w Krakowie i analogiczne uchwały Ministerstwa Zdrowia Włoch, wyrażające zgodę na realizację badań *in vivo*.



Rozprawa doktorska mgr Agaty Ciechanowskiej została przygotowana jako spójny tematycznie cykl prac, które ukazały się już drukiem. Ma ona typowy dla takich prac doktorskich układ rozdziałów stanowiących logiczną całość – zawiera spis artykułów naukowych stanowiących podstawę rozprawy, alfabetyczny spis skrótów używanych w pracy wraz z ich rozwinięciem w języku polskim i angielskim, streszczenia w języku polskim i angielskim, wstęp, cel pracy, syntetyczny opis metodologii badań, główne zagadnienia pracy doktorskiej z omówieniem wyników i dyskusją. Doktorantka zaprezentowała również wnioski płynące z realizacji badań a na końcu zwięźle podsumowała uzyskane w ramach pracy doktorskiej wyniki badań. Rozprawa zawiera dodatkowo 7 rycin i 8 tabel oraz spis wszystkich publikacji stanowiących dorobek naukowy Doktorantki.

W załączonych oświadczeniach współautorów prac stanowiących cykl będący podstawą rozprawy doktorskiej opisowo przedstawiono udział każdej z osób w powstawaniu tych publikacji. Z informacji tu zawartej wynika, że Doktorantka odegrała wiodącą rolę w opracowaniu ogólnej koncepcji badań, projektowaniu doświadczeń, koordynowaniu i realizacji prac eksperymentalnych, zbieraniu wyników i ich interpretacji oraz przygotowaniu wyników do publikacji.

We wszystkich publikacjach wchodzących w skład rozprawy, wśród nazwisk autorów znaleźć można pracowników Instytutu Farmakologii im. J. Maja PAN w Krakowie, jak i badaczy z innych ośrodków (Department of Neuroscience, Mario Negri Institute for Pharmacological Research, Mediolan, Włochy). Ten aspekt rozprawy oceniam bardzo wysoko. Oczywistym wydaje się fakt, że nie wszystkie eksperymenty zostały wykonane przez Doktorantkę samodzielnie – obecnie trudno jest realizować złożone projekty badawcze pojedynczo – bez udziału i zaangażowania innych zespołów badawczych. Taka współpraca ze specjalistami z różnych ośrodków jest niezwykle istotna, ponieważ już na etapie realizacji doktoratu pozwala nawiązywać kontakty naukowe, budować cenne relacje naukowe, uczy współpracy i pracy w zespole, co w przyszłości może poszerzać możliwości w zakresie planowania i realizacji kolejnych projektów.

Wartość naukowa projektu badawczego będącego podstawą rozprawy doktorskiej mgr Agaty Ciechanowskiej została pozytywnie oceniona przez międzynarodowych recenzentów, którzy wyrazili aprobatę dla publikacji pięciu artykułów w czasopismach z listy JCR (liczba punktów MEiN wynosi 580). Warto też zauważyć, że wszystkie prace to publikacje, w których Doktorantka jest pierwszym autorem, co potwierdza zadeklarowaną przez współautorów tych prac Jej wiodącą rolę w przeprowadzeniu badań.

Rozprawa doktorska mgr Agaty Ciechanowskiej rozpoczyna się spisem publikacji wchodzących w skład cyklu prac będących podstawą rozprawy doktorskiej. Są to:

Publikacja [1]: Ciechanowska A, Ciapała K, Pawlik K, Oggioni M, Mercurio D, De Simoni MG, Mika J. Initiators of Classical and Lectin Complement Pathways Are Differently Engaged after



Traumatic Brain Injury-Time-Dependent Changes in the Cortex, Striatum, Thalamus and Hippocampus in a Mouse Model. *Int J Mol Sci.* 2020, doi: 10.3390/ijms22010045.

Publikacja [2]: Ciechanowska A, Popiolek-Barczyk K, Pawlik K, Ciapała K, Oggioni M, Mercurio D, De Simoni MG, Mika J. Changes in macrophage inflammatory protein-1 (MIP-1) family members expression induced by traumatic brain injury in mice. *Immunobiology.* 2020, doi: 10.1016/j.imbio.2020.151911.

Publikacja [3]: Ciechanowska A, Popiolek-Barczyk K, Ciapała K, Pawlik K, Oggioni M, Mercurio D, de Simoni MG, Mika J. Traumatic brain injury in mice induces changes in the expression of the XCL1/XCR1 and XCL1/ITGA9 axes. *Pharmacol Rep.* 2020, doi: 10.1007/s43440-020-00187-y.

Publikacja [4]: Ciechanowska A, Pawlik K, Ciapała K, Mika J. Pharmacological Modulation of the MIP-1 Family and Their Receptors Reduces Neuropathic Pain Symptoms and Influences Morphine Analgesia: Evidence from a Mouse Model. *Brain Sci.* 2023, doi: 10.3390/brainsci13040579.

Publikacja [5]: Ciechanowska A, Rojewska E, Piotrowska A, Barut J, Pawlik K, Ciapała K, Kreiner G, Mika J. New insights into the analgesic properties of the XCL1/XCR1 and XCL1/ITGA9 axes modulation under neuropathic pain conditions - evidence from animal studies. *Front Immunol.* 2022, doi: 10.3389/fimmu.2022.1058204.

Po nim, Doktorantka umieściła wykaz najważniejszych skrótów używanych w dalszej części pracy. Spis ten ułatwia analizę rozprawy. W dalszej części rozprawy zamieszczono streszczenia pracy w języku polskim i angielskim.

Rozdział pierwszy – wstęp - stanowi wprowadzenie do podjętej w pracy tematyki. Doktorantka przedstawiła w nim dane literaturowe dotyczące patofizjologii urazowych uszkodzeń mózgu i bólu oraz ich wzajemnych powiązań. Skoncentrowała się na opisie procesu nocycepcji, roli cytokin i neuropeptydów w jego patogenezie. Opisała najważniejsze cechy bólu neuropatycznego oraz zmiany w układzie immunologicznym jakie pojawiają się po uszkodzeniu ośrodkowego i obwodowego układu nerwowego. Skoncentrowała się na immunologicznych mechanizmach urazowych uszkodzeń układu nerwowego. W tej części pracy bardzo szczegółowo scharakteryzowała rodzinę chemokin i opisała ich udział w tych zjawiskach. W końcowej części rozdziału opisała możliwości leczenia bólu neuropatycznego, ze szczególnym uwzględnieniem analgetyków opioidowych i ich znaczenia w terapii bólu oraz związku układu chemokinowego i opioidowego – zwłaszcza w kontekście rozwoju tolerancji na morfinę. Na koniec podkreśliła zasadność stosowania terapii skojarzonej w leczeniu lekoopornego bólu.

Wstęp napisany jest w sposób interesujący i przejrzysty; został wzbogacony o cztery ryciny, które są dobrym uzupełnieniem opisów. Wstęp ten stanowi bardzo dobre wprowadzenie do dalszej części



rozprawy. Szczególnie należy podkreślić bardzo dokładne opisanie klasyfikacji, roli biologicznej chemokin i ich znaczenia w patogenezie urazowych uszkodzeń układu nerwowego.

W **rozdziale drugim** Doktorantka opisała szczegółowo cel podjęcia badań. Wskazała, że na dwóch mysich modelach urazowych uszkodzeń układu nerwowego: (1) modelu kontrolowanego stłuczenia kory mózgowej (model urazowego uszkodzenia mózgu - bezpośrednie uszkodzenie ośrodkowego układu nerwowego) oraz (2) modelu neuropatii wywołanej podwiązaniem nerwu kulszowego (model Bennett'a - bezpośrednie uszkodzenie obwodowego układu nerwowego), zaplanowała określić zmiany poziomu niektórych markerów wybranych komórek immunologicznych i glejowych oraz wydzielanych przez te komórki czynników na poziomie mózgu i rdzenia kręgowego. Dodatkowo chciała ocenić, jak modulacja farmakologiczna niektórych chemokin i ich receptorów wpływa na próg bólowy w mysim modelu bólu neuropatycznego. Szczegółowe cele badań (m.in. określenie zmian ekspresji niektórych markerów komórkowych i czynników układu dopełniacza w strukturach mózgowych w okresie pourazowym, roli mikrogleju, znaczenia chemokin rodziny MIP-1 oraz XCL1 w obydwu modelach) zostały zebrane w tabeli, co czyni opis bardzo przejrzystym i uporządkowanym.

W mojej opinii cel badań został sformułowany w sposób przemyślany, zaplanowane zadania badawcze służące realizacji celu doświadczenia zostały dobrane w sposób logiczny, a dalsza część rozprawy doktorskiej jest konsekwentnym nawiązaniem do postawionej hipotezy badawczej. W **rozdziale trzecim** Doktorantka krótko przedstawiła metodykę badań *in vivo*, *in vitro* i *ex vivo*, wykorzystane do badań materiały i metody analizy statystycznej, które szczegółowo opisane są w publikacjach [1] – [5]. Opis metodologii badań uzupełniła trzema rycinami.

Rozdział czwarty to opis głównych zagadnień rozprawy. Podzielony on został na sześć podrozdziałów, w których w formie opisowej i tabelarycznej Doktorantka zwięźle zebrała wyniki przeprowadzonych badań.

Rozdział piąty to kserokopie pięciu prac oryginalnych stanowiących przedmiot doktoratu.

Rozdział szósty stanowi szczegółowa i obszerna dyskusja wyników uzyskanych badań. Ta część rozprawy została podzielona na podrozdziały, co ułatwia odniesienie się do wcześniejszych rozdziałów pracy doktorskiej, przede wszystkim do rozdziału czwartego. Doktorantka porównała uzyskane wyniki badań do wyników opublikowanych przez innych badaczy. Dyskusja prowadzona jest w sposób płynny i logiczny, a wnioski dotyczące uzyskanych rezultatów są poprawne i poparte danymi literaturowymi z ostatnich lat. Opis wskazuje, że Doktorantka bardzo dobrze orientuje się w tematyce badawczej.

Rozdział siódmy to krótkie, zaprezentowane w postaci dwóch tabel, podsumowanie wyników badań.

Rozdziały ósmy to wnioski końcowe, po którym przedstawiono spis piśmiennictwa cytowanego w pracy doktorskiej (**rozdział dziewiąty**).



Rozdział dziesiąty to spis wszystkich publikacji Doktorantki – jest to 20 prac o łącznym wskaźniku *Impact Factor* równym 94.109, co stanowi 2250 punktów MEiN.

Rozdział jedenasty to oświadczenia współautorów prac będących podstawą ubiegania się o stopień naukowy doktora, a **rozdział dwunasty** to kserokopie uchwał II Lokalnej Komisji Etycznej ds. Doświadczeń na Zwierzętach w Krakowie i jej włoskiego odpowiednika.

4. Najważniejsze osiągnięcia rozprawy

Zaplanowane w ramach pracy doktorskiej badania miały nowatorski charakter. Należy podkreślić, że dotyczyły dość słabo poznanego zagadnienia jakim jest powiązanie roli układu chemokinowego ze zmianami będącymi skutkiem uszkodzenia układu nerwowego, zarówno ośrodkowego, jak i obwodowego.

W modelu bezpośredniego uszkodzenia ośrodkowego układu nerwowego Doktorantka wykazała udział neutrofilii, mikrogleju, makrofagów i astrogleju w inicjacji procesów wtórnego uszkodzenia mózgu. Wskazała, że modulacja funkcji tych komórek może być nowym podejściem terapeutycznym w stanach urazowego uszkodzenia ośrodkowego układu nerwowego. Na podkreślenie zasługuje ustalenie roli mikrogleju jako czynnika odpowiedzialnego za biosyntezę inicjatorów drogi klasycznej, a tylko w niewielkim stopniu drogi lektynowej aktywacji dopełniacza. Wykazała, że wśród inicjatorów klasycznej drogi dopełniacza kompleks C1 a w przypadku drogi lektynowej fikolina A są istotne dla rozwoju zmian obserwowanych po uszkodzeniu mózgu w różnych jego strukturach. Wydaje się zatem, że modulacja aktywności tych czynników może być nowym sposobem leczenia wywołanych urazem uszkodzeń mózgu. Badania zaowocowały również wyselekcjonowaniem kilku chemokin (CCL3, CCL4 i CCL9, XCL1) jako kluczowych dla rozwoju wtórnych zmian w mózgu u myszy. Farmakologiczna modulacja CCL3, CCL4 i XCL1 oraz ich receptorów może być zatem w przyszłości nową strategią leczenia urazowych uszkodzeń mózgu.

W modelu bólu neuropatycznego indukowanego podwiązaniem nerwu kulszowego u myszy również stwierdzono aktywację mikrogleju, makrofagów i astrogleju, których podwyższony poziom utrzymuje się aż do 35. dnia od operacji. Ich hamowanie może być w przyszłości nowym sposobem leczenia tej postaci bólu przewlekłego. Dla rozwoju nadwrażliwości leżącej u podłoża bólu neuropatycznego kluczowe okazały się CCL3 i CCL9, wydaje się zatem, iż zidentyfikowana u ludzi chemokina CCL3 i jej receptory mogą stanowić ważny cel molekularny dla leków stosowanych w leczeniu bólu neuropatycznego. Podobnie jak w modelu kontrolowanego stłuczenia kory mózgowej, również w modelu neuropatii wywołanej podwiązaniem nerwu kulszowego ważną rolę odgrywają XCL1 i jej receptory: XCR1 i ITGA9. Chemokina ta na poziomie rdzenia kręgowego przyczynia się do rozwoju zmian będących podłożem neuropatii, zatem hamowanie układu XCL1/XCR1/ITGA9 wydaje



się być obiecującym podejściem w aspekcie poszukiwania nowych strategii leczenia lekoopornego bólu jakim jest ból neuropatyczny. Co więcej, ingerencja farmakologiczna w ten układ, może być istotna z uwagi na zaobserwowane zwiększenie skuteczności analgetycznej stosowanych w leczeniu bólu neuropatycznego leków opioidowych (potencjalizacja działania przeciwbólowego przy łącznym stosowaniu opioidów i antagonistów receptorów chemokinowych dla CCL3, CCL9 i XCL1) i ograniczenie rozwijającej się przy wielokrotnych podaniach opioidów tolerancji na działanie przeciwbólowe.

Podsumowując, uzyskane przez Doktorantkę wyniki badań *in vivo*, *in vitro* i *ex vivo*, opublikowane w pracach [1] – [5] i rzetelnie poparte danymi literaturowymi, wskazują na rolę aktywacji układu immunologicznego jako zjawiska leżącego u podłoża zmian zachodzących w mózgu i rdzeniu kręgowym w warunkach uszkodzenia układu nerwowego. Moim zdaniem, przedstawione w rozprawie osiągnięcia świadczą o wysokich kompetencjach naukowych Doktorantki. Wyniki badań wytyczają kierunki poszukiwania nowych terapii do leczenia pourazowych uszkodzeń układu nerwowego – należy poszukiwać substancji modulujących funkcje komórek immunologicznych i glejowych. Cennym podejściem w zakresie poszukiwania nowych strategii terapeutycznych może być celowanie w układ chemokin, zarówno w aspekcie monoterapii uszkodzeń, jak i leczenia skojarzonego – łącznie z dostępnymi na rynku silnymi analgetykami.

5. Uwagi do rozprawy

Rozprawa doktorska mgr Agaty Ciechanowskiej napisana jest bardzo starannie i w sposób niezwykle przemyślany. Doktorantka przykładła wagę do detali, czego przykładem może być chociażby dobór kolorystyki tabel z wynikami dotyczącymi modelu urazowego uszkodzenia mózgu (zielony) i modelu neuropatii indukowanej podwiązaniem nerwu kulszowego (niebieski). Przygotowując autoreferat Doktorantka nie ustrzegła się od kilku drobnych błędów, które wymagają korekty, wyjaśnienia i doprecyzowania. Są one następujące:

1. Spis skrótów wykorzystanych w rozprawie:

– Niektóre skróty niepotrzebnie umieszczono na liście skrótów, ponieważ są na tyle oczywiste, że nie ma potrzeby ich szczegółowego tłumaczenia (np. ANOVA, i.p., i.t., IgG, IgM, mRNA, WHO), zwłaszcza że niektóre z nich nie były w dalszej części pracy używane (np. ANOVA na liście skrótów vs. „analiza wariancji” na str. 35). Ponadto, niektóre skróty w tekście są wyjaśniane przy ich pierwszym użyciu – ITGA-9 na str. 26, WHO na str. 30, a pozostałe są używane z wyjaśnieniem ich znaczenia wyłącznie na liście skrótów.



2. Streszczenia w języku polskim i języku angielskim - obydwie streszczenia są niezwykle obszerne, liczą aż 3 strony przy zmniejszonej, w porównaniu do reszty tekstu rozprawy, interlinii.
3. Wprowadzenie:
 - na str. 18 wymieniono najważniejsze przyczyny rozwoju bólu neuropatycznego – wśród nich warto byłoby wymienić również zakażenia wirusowe (VZV, HIV) i leki (np. niektóre cytostatyki) jako czynniki inicjujące neuropatie.
 - na str. 31 wymienione zostały grupy koanalgetyków, które są stosowane w terapii bólu neuropatycznego, między innymi trójpierścieniowe leki przeciwdepresyjne. Należy zauważyć, że wymieniona w tym miejscu imipramina jest od kilku lat lekiem już niedostępnym w Polsce; z kolei kapsaicynę nie należy zaliczać do miejscowych środków znieczulających (miejscowo stosowany ligand TRPV1, którego działanie znieczulające rozwija się jako efekt desensytyzacji TRPV1 i jest to mechanizm odmienny od tego, poprzez który działają środki miejscowo znieczulające, blokujące kanały sodowe bramkowane napięciem).
4. Główne zagadnienia doktoratu: podrozdziały napisane są z dużą starannością, jednak to, czego mi zabrakło w podsumowaniu każdego z nich to krótka (jednozdanowa) informacja, czy istnieją w obecnej chwili jakieś leki, czy „kandydaci na leki” - związki modulujące funkcje komórek immunologicznych, glejowych, wpływające na biosyntezę inicjatorów szlaków aktywacji dopełniacza stosowane w tego typu zaburzeniach. Czy są dostępne terapie celujące w chemokiny (CCL3 i CCL4, XCL1) i ich receptory zaangażowane w zmiany leżące u podłoża urazowych uszkodzeń układu nerwowego? Jak jest miejsce minocykliny - inhibitora mikrogleju oraz marawiroku – antagonisty CCR5, jako potencjalnych leków w tych jednostkach chorobowych? Podobnie, Doktorantka wspomina o antagonistach CCR5 (TAK-220, AZD-5672) i antagoniście CCR1 (J113863) - są to związki opisane w publikacjach stanowiących cykl - czy któryś z nich osiągnął co najmniej status substancji w badaniach klinicznych, czy są to wyłącznie „narzędzia farmakologiczne” do badań przedklinicznych?
5. Dyskusja: uwagi podobne jak te do rozdziału czwartego (Główne zagadnienia doktoratu) – dotyczą brakującej informacji w podsumowaniach podrozdziałów.

Inne drobne uwagi redakcyjne:

- Praca napisana jest poprawnym językiem, jedynie w niektórych miejscach pojawiają się nieliczne błędy interpunkcyjne.
- Niezręczne sformułowania (np. na str. 13 – „Jednak to, co czyni urazowe uszkodzenie mózgu tak złożonym schorzeniem są procesy wtórne”, „pourazowa patofizjologia mózgu rozwija się”; na str. 16 – „ból warunkowy”; na str. 24 – „członkowie grupy CC”; na str. 32 „utrata analgezji morfinowej w



neuropatii”; na str. 35 – „zwierzęta zdrowe” (w odniesieniu do myszy nieneuropatycznych, bez podwiązanego nerwu kulszowego); na str. 154 – „uniewrażliwienie i internalizacja receptorów”.

Chciałabym podkreślić, że przytoczone uwagi nie mają wpływu na wartość merytoryczną całości opracowania przygotowanego przez p. mgr Agatę Ciechanowską, które to opracowanie oceniam bardzo wysoko.

6. Ogólna ocena rozprawy

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska, której autorką jest mgr Agata Ciechanowska skupia się na bardzo interesującym zagadaniu naukowym jakim jest związek wywołanych urazem uszkodzeń układu nerwowego ze zmianami w zakresie funkcji układu immunologicznego. Doktorantka badała też, czy ingerencja farmakologiczna w układ chemokin mogłaby stanowić nowe podejście terapeutyczne do leczenia tych zaburzeń. W mojej ocenie, z uwagi na wysoką lękooporność bólu neuropatycznego, jak i brak w pełni skutecznych leków do stosowania w pourazowych uszkodzeniach ośrodkowego i obwodowego układu nerwowego, badania zrealizowane przez doktorantkę są niezwykle istotne - nie tylko z naukowego, ale i potencjalnie użytecznego klinicznie punktu widzenia. Uzyskane przez Doktorantkę wyniki wskazują, że modulacja w obrębie układu immunologicznego, chemokinowego może stanowić ważny kierunek dalszych badań przyczyn pourazowych uszkodzeń układu nerwowego. Rezultaty tych badań mogą też być pomocne w wytyczaniu kierunków poszukiwania nowych leków do stosowania w tych wskazaniach.

Cele założone na wstępie pracy były konsekwentnie realizowane i w mojej ocenie zostały osiągnięte. Doświadczenie Doktorantki w zakresie wykorzystania różnych metod badawczych, analiz *in vivo*, *in vitro* i *ex vivo*, wskazują jednoznacznie na Jej zaawansowaną wiedzę dotyczącą tematyki opisanej w pracy. Na podkreślenie zasługuje fakt logicznego zaplanowania zestawu doświadczeń, które pozwoliły zweryfikować postawione hipotezy badawcze oraz bardzo duża staranność przygotowania ocenianej rozprawy.

Rozprawa doktorska, której autorką jest mgr Agata Ciechanowska stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego, wnosząc istotny wkład naukowy w problematykę patogenezy urazowych uszkodzeń ośrodkowego układu nerwowego i bólu neuropatycznego, a Doktorantka wykazała się nie tylko praktyczną umiejętnością samodzielnego prowadzenia badań naukowych, ale i zdolnością wnikliwej dyskusji dotyczącej różnych aspektów powstawania zaburzeń. Pani mgr Agata Ciechanowska wykazała się dużą wiedzą teoretyczną i umiejętnością konfrontacji uzyskanych wyników i osiągnięć naukowych w międzynarodowym środowisku naukowym. Należy jeszcze raz



podkreślić, że publikacje stanowiące podstawę rozprawy doktorskiej zostały wcześniej ocenione pozytywnie przez niezależnych międzynarodowych ekspertów.

Podsumowując, uważam, że przedłożona do recenzji rozprawa doktorska, której autorką jest mgr Agata Ciechanowska spełnia wymagania określone w art. 187 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. 2023, poz. 742). Dlatego stawiam wniosek do Rady Naukowej Instytutu Farmakologii im. Jerzego Maja PAN w Krakowie o przyjęcie rozprawy i dopuszczenie mgr Agaty Ciechanowskiej do dalszych etapów postępowania w sprawie nadania stopnia doktora w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu, dyscyplinie nauki farmaceutyczne.

Jednocześnie, z uwagi na rangę podjętej tematyki, kompetencje Doktorantki, nowatorski charakter podjętej tematyki badawczej, umiejętność prowadzenia interesującej dyskusji oraz znaczenie uzyskanych wyników dla rozwoju badań nad mechanizmami wywołanych urazem uszkodzeń ośrodkowego i obwodowego układu nerwowego, zwracam się z wnioskiem do Wysokiej Rady Naukowej Instytutu Farmakologii im. Jerzego Maja PAN w Krakowie o wyróżnienie rozprawy doktorskiej mgr Agaty Ciechanowskiej, zatytułowanej „Porównanie zmian immunologicznych po uszkodzeniu ośrodkowego i obwodowego układu nerwowego oraz zbadanie wpływu farmakologicznej modulacji wybranych chemokin na transmisję nocycceptywną u myszy”, wykonanej pod kierownictwem naukowym Promotora, Pani prof. dr hab. n. med. Joanny Miki.

Katedra i Zakład
Farmakodynamiki UJ CM

Kinga Salat
prof. dr hab. Kinga Salat