

Recenzja

**Rozprawy doktorskiej mgr Marty Anny Lech pt.
„Ocena interakcji arypiprazolu, atypowego leku przeciwpsychotycznego
z wybranymi lekami przeciwdepresyjnymi w szczurzych modelach
schizofrenii”**

wykonanej w Zakładzie Farmakologii Instytutu Farmakologii im. Jerzego Maja
Polskiej Akademii Nauk w Krakowie

Tematyka rozprawy i uzasadnienie podjęcia tematu badań

Schizofrenia jest ciężką chorobą psychiczną na którą choruje obecnie w Polsce ponad 400 tysięcy osób. W psychozie tej występują objawy pozytywne (omamy, urojenia), negatywne (stany depresyjne, wycofanie z życia społecznego, spłylenie afektu, anhedonia) oraz zaburzenia kognitywne (zaburzenia pamięci i procesów uczenia). Co więcej, u chorych na schizofrenię obserwuje się objawy depresyjne (nawet u 80% chorych), które istotnie potęgują dyskomfort chorego. Mogą one stanowić objawy zwiastunowe psychozy, być częścią jej obrazu klinicznego lub występować w okresie remisji. Symptomy depresyjne zazwyczaj nasilają się wraz z narastającymi objawami schizofrenii i wraz z nią słabną, a więc ich występowanie różni się w zależności od etapu choroby (wczesny vs przewlekły) oraz stanu (ostry vs popsychotyczny). W ostrych epizodach psychotycznych odsetek osób mających objawy depresyjne wynosi do 60%, podczas gdy w popsychotycznej schizofrenii wskaźniki od umiarkowanego do ciężkiego ich nasilenia wahają się od 20% w przewlekłej schizofrenii do 50% po leczeniu pierwszego epizodu.

Badania wykazały, że znaczna część (nawet do 80%) pacjentów ze schizofrenią doświadcza klinicznie istotnego epizodu depresyjnego szczególnie we wczesnej fazie choroby. Ich pojawienie się jest istotne w kontekście procesu leczenia (Upthegrove i in., 2010). Chociaż objawy depresyjne oraz negatywne schizofrenii mogą wydawać się podobne, niektóre cechy są pomocne w ich odróżnieniu (Bosanac i Castle, 2012). Do wspólnych objawów można zaliczyć osłabienie zainteresowania aktywnościami społecznymi, uczucie zmęczenia, zmniejszenie energii, utratę motywacji do działania wraz z towarzyszącym spowolnieniem psychomotorycznym. Natomiast występowanie specyficznego obniżonego nastroju, poczucie winy, beznadziejności, zaburzenia snu i apetytu oraz myśli samobójcze wskazują na zespół depresyjny. Z kolei zblednięcie afektywne i alogia charakterystyczne są dla objawów negatywnych (Lieberman i in., 2006). Występowanie depresji w przebiegu schizofrenii wiąże się ze zwiększonym ryzykiem nawrotu psychotycznego, kolejnej

hospitalizacji, pogorszeniem funkcjonowania i jakości życia pacjentów, a także z wyższą częstością prób samobójczych (Häfner i Heiden, 1990).

Z uwagi na zróżnicowany obraz kliniczny schizofrenii jej leczenie jest ciągle mało efektywne. Rozprawa doktorska mgr Marty Anny Lech przedstawia nową strategię postępowania w leczeniu schizofrenii (z objawami depresyjnymi) opartą na łączeniu niskich dawek leków przeciwdepresyjnych o różnym profilu farmakologicznym z niskimi dawkami atypowego leku antypsychotycznego. Praca została wykonana pod kierunkiem naukowym dr hab. Zofii Rogóż i realizowana w ramach funduszy pochodzących z projektu OPUS 12 Narodowego Centrum Nauki (nr projektu: 2016/23/B/NZ7/01280, kierownik projektu dr hab. Zofia Rogóż) oraz z działalności statutowej Zakładu Farmakologii, Instytutu Farmakologii im. Jerzego Maja Polskiej Akademii Nauk w Krakowie.

W świetle braku wcześniejszych badań na temat leczenia schizofrenii (z objawami depresji) terapią skojarzoną (atypowy lek przeciwpsychotyczny plus lek przeciwdepresyjny), prezentowane podejście badawcze uważam za ważne i aktualne.

Charakterystyka rozprawy

Rozprawa doktorska mgr Marty Anny Lech składa się 10 rozdziałów. Pierwsze siedem rozdziałów pracy napisane jest w języku polskim, z wyjątkiem anglojęzycznej wersji streszczenia. Ta część pracy zakończona jest spisem piśmiennictwa (rozdział 8).

Pozostała część (rozdział 9 i 10) rozprawy doktorskiej stanowią załączniki, takie jak kserokopie prac będących 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 Marty Lech.

Spis treści dysertacji doktorskiej mgr Marty Lech jako rozdział pierwszy wymienia **Wykaz stosowanych skrótów** (wraz z akronimem rozwiniętym w języku angielskim i tłumaczeniem na język polski), chociaż w mojej opinii na pierwszym miejscu w zestawieniu spisu treści powinien być ujęty **Spis artykułów naukowych stanowiących podstawę rozprawy doktorskiej**. Praca doktorska mgr Marty Lech powstała jako zbiór czterech spójnych tematycznie prac doświadczalnych, które zostały opublikowane na łamach czasopism z listy filadelfijskiej takich jak: Pharmacological Reports (2 publikacje, w tym jedna w druku), Behavioural Brain Research czy International Journal of Molecular Sciences, o łącznym 5-letnim współczynniku wpływu równym 16,502. Wszystkie prace powstały w ciągu ostatnich 2 lat, dwie pierwsze Doktorantka firmuje nazwiskiem Marta Hereta. 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 oświadczeniach współautorów (rozdział 9), zgodnie z którymi, dominujący wkład mgr Marty Lech w powstawaniu artykułów polegał na wykonaniu i analizie testów behawioralnych, zebraniu materiału tkankowego od zwierząt, wykonaniu analiz biochemicznych (oznaczanie białka metoda ELISA i ekspresji genów metoda qRT-PCR), a także merytorycznej analizie uzyskanych wyników badań i przygotowaniu manuskryptów.

Zakres obowiązków przedstawiony powyżej świadczy o dużym zaangażowaniu i samodzielności Doktorantki.

Kolejny rozdział to **Streszczenie w języku polskim i angielskim**. Streszczenia nie budzą zastrzeżeń.

Następny rozdział to **Wprowadzenie**. Doktorantka w sposób skondensowany charakteryzuje etiologię i objawy schizofrenii oraz hipotezy jej powstawania, a następnie omawia pokrótce rolę glutationu w utrzymaniu równowagi oksydo-redukcyjnej komórki. Kolejny podrozdział **Wprowadzenia** dotyczy farmakoterapii schizofrenii oraz grup stosowanych leków. Doktorantka przedstawia koncepcję nowej terapii tej choroby, gdzie atypowy lek antypsychotyczny łączony jest z lekiem przeciwdepresyjnym w celu poprawy zaburzeń poznawczych, złagodzenia objawów negatywnych oraz eliminowania epizodów depresji. Treścią następnego podrozdziału jest charakterystyka sugerowanych w nowej terapii schizofrenii leków, które były przedmiotem badań Doktorantki takich jak: atypowy lek przeciwpsychotyczny nowej generacji - aripiprazol (ARI), lek przeciwdepresyjny z grupy związków zwanych selektywnymi inhibitorami wychwytu zwrotnego serotoniny (SSRI) – S-citalopram (ESC) oraz lek należący do czteropierścieniowych leków przeciwdepresyjnych - mirtazepina (MIR).

Przedstawione wprowadzenie dobrze koresponduje z założeniami pracy. Stanowi logiczny ciąg uzupełniających się informacji z elementami nowości. Doktorantka wykazała umiejętność krytycznego korzystania z piśmiennictwa naukowego i zdolności selekcji informacji w odniesieniu do podjętego tematu badań. Wykazała się również umiejętnością zwięzłości opisu.

W rozdziale **Cel pracy (4)** Doktorantka opisała cel podjęcia badań. Zaplanowane zadania badawcze były realizowała w dalszej części pracy jako konsekwencja postawionej hipotezy badawczej. Jednakże, w mojej opinii, na podstawie zaplanowanych badań, nie jest jasne czy Doktorantka badała wpływ leków na objawy negatywne schizofrenii, objawy depresyjne występujące w schizofrenii czy ogólnie nową terapię w leczeniu schizofrenii.

W rozdziale **Materiały i metody (metodyka) (5)** Doktorantka krótko przedstawia metodykę i wykorzystane w pracy materiały. Do badań użyto dwóch modeli indukcji schizofrenii (krótkotrwały model symptomatyczny oraz model neurorozwojowy) oraz trzech testów behawioralnych (test interakcji socjalnej, test rozpoznania nowego obiektu, test otwartego pola). Na uwagę zasługuje model neurorozwojowy. W modelu tym (Górny i wsp., 2019), substancje podawano od 5 do 16 dnia życia (PND - postnatal day). Jeśli ma to być okres największego rozwoju ośrodkowego układu nerwowego, to podanie substancji w tym okresie jest jak najbardziej zasadne. Jeśli zaś ma ten okres odpowiadać okresowi okołoporodowemu u ludzi to trzeba uwzględnić, że pierwsze 10 dni życia osesków szczurów to ekwiwalent trzeciego trymestru ciąży u kobiet. Więc, model nie odzwierciedla zaburzeń powstałych po urodzeniu u ludzi.

Następny rozdział pracy to **Dyskusja** (rozdział 6). W pierwszej części tego rozdziału Doktorantka omówiła korzystny wpływ łącznego podawania ESC czy MIR z ARI w terapii deficytów socjalnych u szczurów ocenianych w modelu symptomatycznym schizofrenii wywołanym jednorazowym podaniem MK-801. Co więcej, z badań Doktorantki wynika, że w te interakcje zaangażowane są receptory serotoninowe 5-HT_{1A} i dopaminowe D₁. W kolejnej części dyskusji Doktorantka dokładnie analizuje (w tym samym modelu schizofrenii) część swoich wyników dotyczących łącznego podawania nieefektywnych dawek ARI i leków przeciwdepresyjnych na deficyty pamięci poznawczej w teście rozpoznawania nowego obiektu. W tej części dyskusji wyników Doktorantka omówiła korzystny wpływ terapii na biochemiczny poziom neuroprzekaźników i ich metabolitów (NA, DA, 5-HT), ważnych dla negatywnych i kognitywnych objawów schizofrenii. Bardzo ciekawa z klinicznego punktu

widzenia jest część dyskusji dotycząca danych uzyskanych w modelu neurorozwojowym (uwagi do modelu powyżej), który podkreśla rolę stresu oksydacyjnego w patomechanizmie schizofrenii. Podobnie jak w modelu symptomatycznym Doktorantka przedyskutowała korzystny wpływ terapii ARI czy ARI i ESC ona obawy schizofrenii (negatywne i kognitywne) oraz ekspresję mRNA dla BDNF (w korze czołowej), wskaźnika schizofrenii/depresji u ludzi oraz kluczowej dla rozwoju mózgu neurotrofiny.

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. Jednakże (w mojej ocenie) w przeprowadzonych doświadczeniach brakuje odpowiednich grup kontrolnych (lek plus 0.9% NaCl/rozpuszczalnik). Co więcej, wprowadzenie tych grup pozwoliłoby na bardziej wiarygodną ocenę statystyczną wyników (dwu/trzy-czynnikowa analiza wariancji ANOVA). Ma to szczególne znaczenia zwłaszcza przy ocenie wyników badań biochemicznych.

W siódmym rozdziale Doktorantka sformułowała **Podsumowanie** pracy i **wnioski**. W zwięzłej, opisowej formie Doktorantka w 4 punktach przedstawiała podsumowanie pracy, kończąc ten rozdział ogólnymi wnioskami.

Kolejny, ósmy rozdział przedstawia **Bibliografię** (103 pozycje) użytą we wprowadzeniu oraz dyskusji. Spis piśmiennictwa zawiera w większości aktualne publikacje (wyłącznie anglojęzyczne) zaprezentowany alfabetycznie, w sposób jednolity z wyjątkiem kilku, które zawierają również numery doi?!

Podsumowując, przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska mgr Marty Lech ma charakter nowatorski, wnosi istotny wkład naukowy w problematykę leczenia schizofrenii, kieruje bowiem uwagę naukowców na zmianę strategii leczenia tej choroby. Praca ma istotne znaczenie kliniczne. Napisana jest w większości poprawnym językiem polskim (drobne uwagi np.: str. 2: zrealizowane; str. 13: glutation; str. 19: rasy; wielokrotne wprowadzanie skrótów tych samych nazw leków; S-citalopram czy escitalopram, str. 32, pkt. 2: pozytywnych czy negatywnych symptomów schizofrenii?). Badania są prawidłowo wykonane, charakteryzują się dużym stopniem złożoności i trudności w wykonaniu. Cele i założenia przedstawione przez Doktorantkę zostały osiągnięte. Powyższe uwagi krytyczne nie umniejszają znacząco wartości pracy.

Zatem z całym przekonaniem stwierdzam, że rozprawa doktorska, której autorką jest mgr Marta Lech spełnia wymagania stawiane rozprawom doktorskim przez Ustawę z dnia 20 lipca 2018 roku. 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 Marty Lech do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

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