



**Instytut Farmakologii  
im. Jerzego Maja  
Polskiej Akademii Nauk**

Dr hab. Zofia Rogóż  
Zakład Farmakologii  
Instytut Farmakologii im. Jerzego Maja  
Polskiej Akademii Nauk  
ul. Smętna 12, 31-343 Kraków  
tel. (12) 662 32 79  
e-mail: rogoz@if-pan.krakow.pl

### **OCENA**

rozprawy doktorskiej pt. **„Poszukiwanie nowych możliwości farmakoterapii zespołu stresu pourazowego”** wykonanej przez Panią mgr **Natalię Malikowską-Racia** w Katedrze Farmakodynamiki Wydziału Farmaceutycznego Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie **pod kierunkiem promotora Pani prof. dr hab. Kingi Sałat.**

#### **Formalna charakterystyka pracy**

Rozprawa doktorska Pani mgr Natalii Malikowskiej-Racia została opracowana zgodnie z wytycznymi wynikającymi ze znowelizowanej Ustawy o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz stopniach i tytule w zakresie sztuki z dnia 14. 03. 2003 roku, z późniejszymi zmianami. Przedłożona do oceny rozprawa doktorska pod tytułem **„Poszukiwanie nowych możliwości farmakoterapii zespołu stresu pourazowego”** jest opisana na 123 stronach oraz z załącznikami i suplementami w ilości 4, co stanowi razem 192 strony. W jej skład wchodzi: spis treści, wykaz skrótów, tabela, w której przedstawiono porównanie wybranych modeli zwierzęcych **zespołu stresu pourazowego** w odniesieniu do kryteriów diagnostycznych DSM-5 oraz spis rycin (18 rycin) i 10 kolejnych części; tj. wstęp, hipotezy badawcze i cel pracy, materiały i metody badawcze, wnioski, dyskusja, streszczenie w języku polskim i angielskim, obszerna bibliografia (na którą składa się 305 pozycji) oraz wykaz publikacji doktoranta (13 pozycji). Cykl trzech prac stanowiących podstawę rozprawy doktorskiej, spójnych tematycznie, oryginalnych artykułów naukowych z lat 2017 – 2020 oraz jedną pracę

przeglądową opublikowano w czasopismach o zasięgu międzynarodowym: Brain Research (2017 - IF = 3.125, PM- 30), Neuropharmacology (2019 – IF = 4.249, PM=140), Behavioural Brain Research (2020 – IF = 3.002, PM-100) oraz Pharmacological Reports (praca przeglądowa, 2019 – IF = 2.76, PM-70). **Łączny współczynnik oddziaływania publikacji (IF) wynosi 13.136, co przekłada się na 340 punktów ministerialnych, z uwagi na fakt, iż obydwie periodyki są umieszczone w wykazie A czasopism naukowych, ogłoszonych przez MNiSW w 31 lipca 2019 roku.** Na podkreślenie zasługuje fakt, że Doktorantka jest pierwszym autorem we wszystkich czterech publikacjach, a efekty w nich opisane są wynikiem pracy zespołowej, potwierdzone pisemnymi oświadczeniami, w których współautorzy określili swoje zaangażowanie.

Składające się na rozprawę doktorską oryginalne prace badawcze były poddane ocenie i wnikliwej analizie przez redakcje czasopism i niezależnych recenzentów, a fakt opublikowania ich w prestiżowych czasopismach wskazuje na wysoką wartość naukową. Dlatego moja rola jako recenzenta tak przygotowanej rozprawy doktorskiej sprowadza się raczej do oceny polskojęzycznej rozprawy doktorskiej, będącej autorskim opracowaniem Doktorantki, prezentującym Jej zasób wiedzy, umiejętność formułowania wniosków i posługiwania się piśmiennictwem naukowym.

### **Merytoryczna ocena dysertacji**

Rozprawa doktorska Pani mgr Natalii Malikowskiej-Racia jest wynikiem badań zespołowych prowadzonych w grupie **Pani prof. dr hab. Kingi Sałat**, które dotyczą terapii zespołu stresu pourazowego (*ang. posttraumatic stress disorder, PTSD*). Wiadomo, że leczenie zespołu stresu pourazowego jest postępowaniem złożonym łączącym psychoterapię i farmakoterapię. Ta ostatnia wykorzystuje głównie leki przeciwdepresyjne i jest skuteczna u ok. 30% leczonych pacjentów.

Niniejsza praca, jak i zainteresowanie naukowe Doktorantki, dobrze wpisuje się w postępowy nurt badań naukowych jakim jest poszerzenie wiedzy dotyczącej mechanizmów biologicznych oraz wskazanie leków i związków, które hamują rozwój **zespołu stresu pourazowego**-podobnego fenotypu u myszy CD-1. Objawy **zespołu stresu pourazowego**, jak i odpowiadające im zachowania gryzoni, są procesami zbliżonymi ewolucyjnie i są charakterystyczne dla wszystkich ssaków (np. procesy warunkowania klasycznego, czy aktywacja osi podwzgórze-przysadka-nadnercza). W związku z tym ich tożsama interpretacja wydaje się uzasadniona, a leki aktywne w modelach zwierzęcych stanowią grupę

potencjalnych kandydatów do przyszłych badań klinicznych. Stąd wybór przedmiotu badań oraz ich zakres przedstawiony w rozprawie jest racjonalny.

Na 20 stronach Wprowadzenia, Doktorantka w sposób niezwykle syntetyczny przedstawiła charakterystykę zespołu stresu pourazowego jako jednostkę chorobową, podkreślając, że jest to złożone zaburzenie psychiczne występujące u osób, które doświadczyły lub były świadkami traumatycznych wydarzeń, np. kataklizmów, poważnych wypadków komunikacyjnych, terroryzmu, gwałtu, wojny lub innych aktów przemocy. Następnie została przedstawiona klasyfikacja zaburzeń psychicznych zaproponowana przez Amerykańskie Towarzystwo Psychiatryczne z 2013 roku DSM-5, w którym opisano osiem kryteriów diagnozy **zespołu stresu pourazowego** (A - H), w tym cztery grupy niezależnie występujących objawów (B - E) oraz warunki jakie muszą być spełnione przy postawieniu diagnozy. W kolejnym fragmencie Doktorantka opisała neuropatologie związane z zespołem stresu pourazowego oraz wybrane neuropatologie zilustrowała na Rycinie 1, jako zaburzenie funkcji osi podwzgórze-przysadka-nadnercze oraz upośledzenie hamującej kontroli brzuszno-przysadkowej kory przedczołowej nad wybranymi obszarami limbicznymi. Doktorantka zaprezentowała również czynniki ryzyka i dane epidemiologiczne, podkreślając, że mimo uczestnictwa w traumatycznych wydarzeniach wg danych Światowej Organizacji Zdrowia, najmniej pacjentów cierpiących na **zespołu stresu pourazowego** zarejestrowano w Japonii (ok. 1.3%), z kolei najwięcej w Irlandii Północnej (ok. 8.8%), pomimo, że prawdopodobieństwo uczestnictwa w traumatycznych wydarzeniach w tych krajach jest zbliżone (ok. 60%).

W kolejnym podrozdziale Doktorantka przedstawiła leki aktualnie stosowane w terapii zespołu stresu pourazowego, podkreślając, że jedną z powszechnie akceptowaną farmakoterapią to monoterapia inhibitorem wychwytu zwrotnego serotoniny (np., sertralina, paroksetyna czy fluoksetyna) oraz leki przeciwdepresyjne: (wenlafaksyna, mirtazapina), atypowe leki przeciwpsychotyczne (arypiprazol, risperidon, olanzapina), przeciwpadaczkowe (kwas walproinowy, topiramata, tiagabina, pregabalina) oraz leki stosowane w terapii nadciśnienia..

Celem niniejszej pracy było wskazanie leków i związków, które hamują rozwój **zespołu stresu pourazowego**-podobnego fenotypu u myszy CD-1. Objawy **zespołu stresu pourazowego**, jak i odpowiadające im zachowania gryzoni, są procesami zbliżonymi ewolucyjnie i są charakterystyczne dla wszystkich ssaków (np. procesy warunkowania klasycznego, czy aktywacja osi podwzgórze-przysadka-nadnercza). W związku z tym ich

tożsama interpretacja wydaje się uzasadniona, a leki aktywne w modelach zwierzęcych stanowią grupę potencjalnych kandydatów do przyszłych badań klinicznych.

Do indukcji rozwoju **zespołu stresu pourazowego** zastosowano **procedurę pojedynczego przedłużonego stresu** (mSPS), która odzwierciedla stres związany z traumatycznym przeżyciem i powoduje zmiany odpowiadające wybranym neuropatologią **zespołu stresu pourazowego**. Zbadano wpływ kilkunastu związków na te typy zachowań myszy CD-1, które bezpośrednio korelują z symptomatologią **zespołu stresu pourazowego** przedstawioną w DSM-5: odpowiedź zwierząt w **teście warunkowania reakcji strachu** (FG), **reakcje na stres w teście wymuszonego pływania** (FST) oraz strategię eksploracji **uniesionego labiryntu krzyżowego** (EPS). Dodatkowo w wybranych eksperymentach oceniano wpływ **procedury pojedynczego przedłużonego stresu** i badanych związków na wokalizację ultradźwiękowe myszy i ich zachowanie w teście czterech płytek (FPT). W opisanych eksperymentach zwierzęta poddawano kilku powtarzanym testom, aby odzwierciedlić dynamikę zmian obserwowaną w warunkach klinicznych. Zbadano również, czy leki wykazujące największą aktywność u samców myszy CD-1 są również skuteczne u samic oraz określono, jak leki wpływają na poziom kortykosteronu, testosteronu i estradiolu w osoczu krwi samców i samic myszy przy użyciu immunoenzymatycznej techniki *sandwich* ELISA.

**Uzyskane wyniki w ramach niniejszej pracy wskazują**, że zespół stresu pourazowego-podobny fenotyp związany z ekspozycją na procedurę pojedynczego przedłużonego stresu pojawia się około 2 tygodnie po procedurze. Ten fenotyp utrzymuje się przez cały czas trwania eksperymentu (około 3 tygodni po procedurze).

W niniejszej pracy Doktorantka wskazała leki łagodzące typy zachowań myszy, które korespondują z objawami **zespołu stresu pourazowego** obserwowanymi u pacjentów. Ponieważ podłoże tego typu zachowań jest zbliżone u gryzoni i ludzi, badania przedkliniczne w **zespołu stresu pourazowego** są istotnym źródłem informacji.

Szczególną uwagę Doktorantka zwróciła na agonistów receptorów dopaminowych, tj. niektóre leki stosowane obecnie w chorobie Parkinsona (np. pramipeksol, rotigotyna) oraz leki, które poprzez hamowanie wychwytu zwrotnego GABA nasilają neurotransmisję GABA-ergiczną (lek przeciwpadaczkowy – tiagabina).

Wskazała również leki, które łagodzą tylko wybrane typy zachowań, np. buspiron łagodzący objawy korespondujące z kryterium B i C, ale nie kryterium D DSM 5, czy ketamina, która przeciwnie wpływa na wyżej wymienione objawy i wykazuje jedynie potencjalną aktywność przeciwdepresyjną.

Uzyskane wyniki sugerują, że płeć może mieć istotne znaczenie w efektywności terapii, co zaobserwowano w przypadku tiagabiny. Fakt ten może wynikać ze zmiany aktywności układu GABA-ergicznego u kobiet chorujących na **zespołu stresu pourazowego**, spowodowany obniżeniem poziomu neurosteroidów, pozytywnych modulatorów receptora GABA<sub>A</sub>.

Doktorantka dowiodła również, że aktywność osi podwzgórze-przysadka-nadnercze u samców i samic myszy w zastosowanym mysim modelu **zespołu stresu pourazowego** różni się, a leki skutecznie łagodzące zachowanie korespondujące z objawami **zespołu stresu pourazowego** nie wpływają na poziom kortykosteronu, co sugeruje, że ich aktywność nie wynika bezpośrednio z wpływu na oś podwzgórze- przysadka-nadnercze.

Ponadto Doktorantka zaznaczyła, że skuteczna farmakoterapia **zespołu stresu pourazowego**, oprócz rodzaju leczenia i płci, powinna także uwzględnić czas i okres podania leku. Zarówno Doktorantka, a także inni badacze zwracają uwagę, że kluczowym jest okres między ekspozycją na traumatyczne wydarzenia, a pojawieniem się pierwszych symptomów. Podane wówczas leki mogą istotnie wpływać na rozwój choroby, hamować albo przyspieszać jej przebieg.

Większość zbadanych przez Doktorantkę związków to leki, stosowane do leczenia innych chorób, można wstępnie określić ich potencjalną aktywność kliniczną poprzez monitorowanie pacjentów, którzy cierpią na **zespołu stresu pourazowego**, ale są też leczeni w kierunku innych chorób, np. choroby Parkinsona czy padaczki. W podobny sposób można ocenić rolę płci dla efektu wybranego typu leczenia. Są to przykłady nieinwazyjnego wykorzystania doniesień przedstawionych w niniejszej pracy, które jednocześnie byłyby interesującym poszerzeniem przedstawionych badań.

Uwagi;

1. Pramipeksol jest nie tylko agonistą receptora dopaminowego D<sub>2</sub>, ale także D<sub>3</sub> i D<sub>4</sub>.
2. Należało podać współczynnik oddziaływania publikacji (IF) oraz punkty ministerialne prac stanowiących podstawę pracy doktorskiej.

### Podsumowanie

Należy stwierdzić, że uzyskane przez Doktorantkę wyniki wzbogacają naszą dotychczasową wiedzę w nowe informacje na temat neuropatologii związanych z zespołem stresu pourazowego oraz z czynnikami ryzyka i danymi epidemiologicznymi, a także farmakoterapii tego zespołu. Pani mgr Natalia Malikowska-Racia wykazała się doskonałym opanowaniem wielu technik badawczych z zakresu behawioru i biochemii eksperymentalnej.

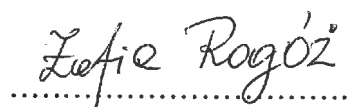
Sprostanie wymogom redakcyjnym prestiżowych wydawnictw świadczy też o umiejętności opracowywania wyników, ich krytycznej analizie i pogłębionej znajomości przedmiotu. Duża wartość rozprawy wynika z kompleksowego podejścia do rozpatrywanego problemu oraz zastosowania odpowiednio dobranych metod badawczych. Również polskojęzyczna Dysertacja będąca autorskim opracowaniem Doktorantki, prezentuje Jej bardzo duży zasób wiedzy, umiejętność formułowania wniosków i posługiwania się piśmiennictwem naukowym.

### **Wniosek końcowy**

Przedstawiona do oceny praca pt „Poszukiwanie nowych możliwości farmakoterapii zespołu stresu pourazowego” spełnia wszystkie wymagania określone w artykule 13 Ustawy z dnia 14 marca 2003 roku o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki z późniejszymi zmianami, stawiane pracom doktorskim. W związku z powyższym przedkładam Wysokiej Radzie Wydziału Farmaceutycznego UJ CM, wniosek o dopuszczenie Pani mgr Natalii Malikowskiej-Racia do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Równocześnie składam wniosek do Wysokiej Radzie Wydziału Farmaceutycznego UJ CM, o **wyróżnienie pracy**. Podstawą wyróżnienia mogą być istotne wartości poznawcze opracowanego problemu, merytorycznie poprawne przeprowadzenie, nietrywialnych metodologicznie badań oraz stosowne opracowanie wyników doświadczalnych w formie trzech publikacji w prestiżowych czasopismach naukowych oraz jednej pracy przeglądowej, które stały się podstawą dysertacji.

Kraków, 17. 04. 2020 rok



dr hab. Zofia Rogóż