

Prof. dr hab. n. med. Marek Kowalczyk
Wydział Rehabilitacji, Akademia Wychowania Fizycznego
W Warszawie

OCENA

rozprawy doktorskiej mgr Kamili Kulik „Wpływ jonów magnezu na analgezję indukowaną morfiną – próba określenia mechanizmu działania”

Wybór tematu nadal bardzo aktualny. Ludzie od tysięcy lat stosują różne substancje chemiczne wpływające na zmniejszenie się dolegliwości bólowych. Historia walki z bólem jest tak długa jak historia ludzkości. Jest niemal pewne, że jednym z pierwszych doznań, które człowiek najprędzej i najskwapliwiej wykorzystał w codziennym ciężkim życiu było zmniejszenie bólu, przyniesienie sobie i innym ulgi w cierpieniu. Efektywne łagodzenie bólu wciąż stanowi problem kliniczny. W mechanizmach przekazywania bólowego zaangażowane są liczne substancje neuroprzekaźnikowe (neurotransmitery, neuromodulatory). Przy ich udziale w miliardach synaps układu nocyceptywnego bezustannie dochodzi do wielokrotnych przemian sygnałów bioelektrycznych w biochemiczne i odwrotnie. Wywołuje to zwiększenie lub zmniejszenie pobudliwości kolejnych neuronów, a co za tym idzie odpowiednie zmiany przetwarzanej informacji nocyceptywnej. Silnym impulsem do badań nad biochemicznymi procesami nocycepcji i antynocycepcji stało się odkrycie endogennych substancji opioidowych. Odkrycia te zapoczątkowały serię intensywnych badań dotyczących zarówno opioidów jak również udziału “klasycznych” neurotransmiterów. To właśnie przeciw bólowi skierowane są narzędzia współczesnej medycyny, ponieważ, jak trafnie stwierdził kiedyś badacz mechanizmów bólu profesor Melzak: ”nie ma uzasadnienia dla tych cierpień, niczego nie mogą nas one nauczyć”. Nie da się bólu wyeliminować z życia człowieka i nie taki też jest cel medycyny. Chodzi o to, by jego odczuwanie nie było cierpieniem, które wg Alberta Schweizera może być gorsze od śmierci. W praktyce klinicznej podejmuje się próby stosowania opioidów w terapii skojarzonej razem z tzw. koanalgetykami. Najczęściej jako leki uzupełniające używane są środki przeciwdepresyjne, przeciwdrgawkowe, jak również syntetyczni antagoniści receptora N-metylo-D-asparaginowego (NMDA), a nawet pierwastki.

Przedstawiona do recenzji praca dotyczy tych zagadnień, zbadano aktywność antynocyceptywną łącznego podania magnezu z morfiną w modelu receptorowego bólu ostrego oraz w modelu bolesnej neuropatii cukrzycowej indukowanej streptozotocyną (STZ). Dostępne w piśmiennictwie dane wskazują, że receptory NMDA mogą sąsiadować na błonach komórkowych tych samych neuronów z receptorami μ opioidowymi (MOP) w strukturach ośrodkowego układu nerwowego, w tym w istocie szarej okołowodociągowej (PAG). Co więcej, w stanie spoczynku C-koniec receptora MOP jest połączony z regionem

C1 C-końca podjednostki NR1 receptora NMDA. Morfina prowadzi do aktywacji kinazy białkowej C(PKC), która fosforyluje reszty serynowe znajdujące się na C-końcu podjednostki NR1, natomiast zaktywowanie receptora NMDA (np. poprzez rozwój bólu neuropatycznego) rekrutuje kinazę PKA, która fosforyluje reszty aminokwasowe w tym seryny na C-końcu receptora MOP. W konsekwencji dochodzi do rozpadu kompleksu receptorów MOP-NMDA, co może odpowiadać za spadek efektywności analgetycznej opioidu. Próba poznania tego mechanizmu w pracy doktorskiej stanowi istotne nowatorskie spojrzenie na ten problem. Ustalenie mechanizmu przeciwbólowego działania tych wybranych substancji, może umożliwić tworzenie nowych leków, ale pozbawionych niektórych niekorzystnych oddziaływań. Cel pracy, logiczne i jasne uzasadnienie jego świadczą o dojrzałości badawczej Autorki.

Przedstawiona do oceny praca wraz z piśmiennictwem liczy 141 stron. Wstęp, cel pracy, materiał i metody, wyniki, dyskusja, wnioski, które spełniają właściwie rolę podsumowania, streszczenie oraz piśmiennictwo i wykaz skrótów - są rozdziałami pracy zgodnie ze schematami pisania prac doktorskich.

We wstępie, na 34 stronach Autorka wykazała się bardzo dobrą znajomością przedmiotu, rozpoczyna rozważaniami na temat bólu jego klasyfikacji, endogennych układów opioidowych, omawiając szczegółowo różne receptory tych układów i kompleksu receptora NMDA. Swobodnie porusza się w problemach związanych z transmisją nocycceptywną szczególnie dokładnie przedstawia udział badanych układów w procesach związanych z bólem ostrym i patogenezą polineuropatii cukrzycowej oraz bólu neuropatycznego. Podkreśla, że jedną z najczęściej podnoszonych przyczyn oporności bólu neuropatycznego na działanie opioidów jest nadmierna aktywacja jonotropowych receptorów NMDA w tym jonów magnezu i ich fizjologicznej roli. Informacje zawarte we wstępie świadczą o ogromnej wiedzy Autorki. Rozdział ten bogato wspierany piśmiennictwem i rycinami jest bardzo istotną częścią rozprawy. Ten rozdział w mojej ocenie powinien być osobno opublikowany ponieważ bardzo istotnie przedstawia interakcję zachodzącą między receptorami MOP i receptorem NMDA, wydaje się mieć istotne znaczenie w lepszym poznaniu i zrozumieniu mechanizmów odpowiedzialnych za rozwój tolerancji opioidowej. Co ważne, połączenie to stanowi obiecującą perspektywę i może przyczynić się do opracowania skuteczniejszej farmakoterapii bólu neuropatycznego poprzez jednoczesne oddziaływanie na receptor MOP i powiązany z nim receptor NMDA.

Wybór metod badawczych, jak również analiz statystycznych i sposób przeprowadzenia doświadczeń - opisanych zwięźle z rycinami ale wyczerpująco - nie budzi zastrzeżeń.

Wszystkie procedury z wykorzystaniem zwierząt zostały przeprowadzone w zgodzie z wytycznymi Dyrektywy Parlamentu Europejskiego i Rady 2010/63/UE z dnia 22 września 2010 roku dotyczącej ochrony zwierząt wykorzystywanych do celów naukowych.

Ekspertyzy zostały przeprowadzone po wcześniejszym uzyskaniu zgody II Lokalnej Komisji Etycznej ds. Doświadczeń na Zwierzętach działającej przy Warszawskim Uniwersytecie Medycznym (uchwały nr 34/2012 i 22/2015), jak również I Lokalnej Komisji Etycznej mieszczącej się przy Uniwersytecie Warszawskim (uchwała nr 497/2017).

Na szczególne podkreślenie zasługuje fakt szerokiego zakresu umiejętności badawczych Doktorantki od mikroneurourgii i badań behawioralnych, poprzez analizy biochemiczne co należy raczej do rzadkości.

Wyniki badań przedstawione na 25 stronach i 13 rycinach są czytelne i bardzo starannie wykonane co ułatwia ich analizę.

Dyskusja, według mnie, jest zawsze świadectwem wykształcenia naukowego badacza. Właściwy sposób przedstawienia swoich wyników w kontekście zdobyczy innych autorów a zwłaszcza krytyczny stosunek do osiągnięć własnych i cudzych jest dowodem dojrzałości naukowej. Ten rozdział zawarty na 18 stronach jest bardzo dobrze napisany. Dyskusja przeprowadzona została z dużą znajomością współczesnego piśmiennictwa związanego z przedmiotem rozprawy i udowadnia postawione cele. Na uwagę zasługuje tu konfrontowanie własnych wyników z rzeczywiste aktualnymi danymi (do roku 2019 włącznie). Długa lista piśmiennictwa (324 pozycje), została wykorzystana.

Wnioski (w liczbie 8) wyciągnięte na podstawie uzyskanych wyników są słuszne chociaż moim zdaniem zbyt szczegółowe, ale zgodne z celem i założeniami pracy, chociaż 8 wniosek moim zdaniem wymaga dalszych badań

Doktorantka wykazała, że magnez nasila działanie morfiny w receptorowym bólu ostrym, jednak efekt antynocyceptywny jest szczególnie silnie zaznaczony w opornym na działanie opioidów bólu neuropatycznym. Mechanizm tej interakcji wydaje się być związany z obniżeniem przez magnez fosforylacji pronocyceptywnych receptorów NMDA i w konsekwencji hamowaniem ich aktywności, jak i pośrednim obniżeniem fosforylacji receptorów MOP, co z kolei odblokowuje ich aktywność.

Praca ta, co jest również istotne, poza wartościami poznawczymi na poziomie badań eksperymentalnych ma pewne wartości praktyczne, które mogą znaleźć zastosowanie w przyszłości w klinice bólu.

Oceniana praca wnosi nowe istotne elementy poznawcze i moim zdaniem odpowiada warunkom stawianym przez Ustawę rozprawom na stopień doktora nauk i dlatego stawiam Wysokiej Radzie Dyscypliny Nauk Farmaceutycznych Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego wniosek o dopuszczenie mgr Kamili Kulik do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Jednocześnie wnioskuję o wyróżnienie pracy.

Warszawa, 08 sierpnia 2022r.

Prof. dr hab. n. med. Marek Kowalczyk