

Prof. dr hab. n. med. Marek Kowalczyk
Wydział Rehabilitacji Katedra Pielęgniarstwa
Akademia Wychowania Fizycznego w Warszawie

OCENA

rozprawy doktorskiej mgr farm. Karoliny Frączek

**nt. „ Ocena aktywności analgetycznej oraz wstępnego profilu bezpieczeństwa związku
hybrydowego opioid-neurotensyna”**

Wybór tematu bardzo aktualny. Ludzie od tysięcy lat stosują różne substancje chemiczne wpływające na zmniejszenie 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 z bólem było jego zmniejszenie, przyniesienie sobie i innym ulgi w cierpieniu. W mechanizmach przekąźnictwa bólowego zaangażowane są liczne substancje neuroprzekąźnikowe (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 i ich receptorów. Odkrycia te zapoczątkowały serię intensywnych badań dotyczących zarówno opioidów jak również udziału “klasycznych” neurotransmiterów, kwasu γ -amino-masłowego, acetylocholino, serotoniny, dopaminy, noradrenaliny i innych neuropeptydów, w tym neurotensyny w mechanizmach przekąźnictwa bólowego i działaniu przeciwbólowym. . Jak słusznie zauważa Doktorantka, równoczesne przyjmowanie kilku leków może mieć wpływ na farmakodynamikę i farmakokinetykę poszczególnych związków, może zwiększać ryzyko wystąpienia interakcji lek-lek oraz zmieniać ich dostępność biologiczną. Inną z możliwości jest wykorzystanie w terapii tzw. ligandów wielofunkcyjnych posiadających w swojej strukturze odrębne farmakofory działające na odmienne miejsca receptorowe ale mające wspólny cel – aktywność analgetyczną w modelu bólu receptorowego. Celem niniejszej pracy jest charakterystyka aktywności biologicznej nowego związku hybrydowego opioid-neurotensyna (PK23) zaprojektowanego i zsyntetyzowanego w Zakładzie Neuropeptydów IMDi K PAN w Warszawie.

Przedstawiona do recenzji praca dotyczy tych zagadnień, wnosi nowe informacje poznawcze dotyczące tej hybrydy w bardzo szerokim zakresie, co budzi podziw recenzenta bo zakres badań mógłby spełniać standardy pracy habilitacyjnej w czym dopatruję się bardzo dużej aktywności promotorów w stawianych celach .

W swojej pracy doktorskiej Autorka podejmuje ten temat, stawiając sobie za cele w ilości ośmiu w tym - miejsce głównego działania hybrydy (mózg, rdzeń kręgowy, tkanki obwodowe) - działania hybrydy w stosunku do receptora opioidowego MOP i neurotensynowego NTS1 - ocenę zdolności hybrydy PK23 do przenikania przez barierę krew-mózg – wpływ na rozwój tolerancji w działaniu analgetycznym *in vivo* oraz co jest ważne w różnych dostępnych modelach bólu. Doktorantka zajęła się szerokim i dobrze opanowanym zakresem wiedzy w poznaniu mechanizmu działania hybrydy. Badania tego typu są bardzo ważne, ustalenie mechanizmu przeciwbólowego działania hybrydy PK23, może umożliwić tworzenie nowych leków. Cele pracy, logiczne i jasne uzasadnienie ich, świadczy o dojrzałości badawczej Autorki.

Przedstawiona do oceny praca wraz z piśmiennictwem liczy 155 stron. Wstęp, cel pracy, materiał i metody, wyniki, dyskusja, wnioski, 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 w zakresie patofizjologii w różnych typach bólu, farmakoterapii bólu i tolerancji na opioidy oraz co jest ważne koncepcją tworzenia związków hybrydowych ich budowy w kontekście działania farmakologicznego. Swobodnie porusza się w problemach związanych z transmisją nocycceptywną szczególnie dokładnie przedstawia udział badanych układów w procesach związanych z bólem ostrym i zapalnym. Rozdział ten bogato wspierany piśmiennictwem i rycinami (6) jest bardzo istotną częścią rozprawy.

Wybór metod badawczych, jak również sposób przeprowadzenia doświadczeń - opisanych zwięźle ale wyczerpująco. Mam jedną dyskusyjną uwagę (nie oceniam to jako błąd), część autorów uważa, że podanie formaliny do łapy szczura to tylko "pseudo model bólu zapalnego" a prawdziwy jest wywoływany podaniem niepełnego adjuwantu Freuda lub karageniny. Doktorantka posiadając bardzo dużą wiedzę teoretyczną i doświadczenie prawidłowo i dobrze w mojej ocenie przygotowała materiał i metodykę badań co ma bardzo duże znaczenie dla prawidłowej realizacji celu pracy. Na szczególne podkreślenie co należy do rzadkości wśród doktorantów, zasługuje fakt szerokiego zakresu umiejętności badawczych Doktorantki od mikrochirurgii i badań behawioralnych, poprzez analizy biochemiczne do

badań chromatograficznych i badań radioreceptorowych oraz spektrometrii masowej. Właściwe analizy statystyczne zwiększają wartość pracy.

Wyniki badań przedstawione na 38 stronach w 5 tabelach i 17 rycinach są czytelne i starannie wykonane, a podpisy pod rycinami ułatwiają czytelnikowi przybliżyć wcześniejsze opisy wyników.

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 32 stronach opracowany został z dużą znajomością współczesnego piśmiennictwa związanego z przedmiotem rozprawy i udowadnia postawione cele. Na uwagę zasługuje tu konfrontowanie własnych wyników z rzeczywiście aktualnymi danymi (do roku 2019 włącznie). Długa lista piśmiennictwa (322 pozycje), została w pełni wykorzystana.

Wnioski (w liczbie 6) wyciągnięte na podstawie uzyskanych wyników są słuszne chociaż moim zdaniem zbyt szczegółowe, ale zgodne z celem i założeniami pracy. O dojrzałości badawczej Doktorantki świadczy wniosek 7 w którym Autorka podaje potrzebę dalszych badań, których podstawą są dotychczasowe wyniki.

Doktorantka dowiodła, że wyniki badań funkcjonalnych GTPγS wykazały agonistyczny charakter związku PK23 zarówno względem receptorów opioidowych MOP, jak i neurotensynowych NTS1. Zdolność aktywacji wymienionych układów receptorowych potwierdziły obserwacje *in vivo* – w szczurzym modelu ostrego bólu nocyceptywnego, obserwowano znaczący, choć krótkotrwały efekt analgetyczny hybrydy. Najsilniejszą odpowiedź antynocyceptywną odnotowano po jej podaniu nardzeniowym (*i.t.*), co pozwala sądzić, iż głównym poziomem działania są receptory rdzenia kręgowego. Podobną skuteczność uzyskano w łagodzeniu bólu w teście formalinowym u zwierząt, który stanowi model bólu tonicznego z komponentą zapalną i znacznie lepiej odzwierciedla ból kliniczny w porównaniu do modeli z krótkotrwałe działającym bodźcem nocyceptywnym. Te badania potwierdzają aktywność hybrydy nie tylko przeciwbólową, ale również i przeciwzapalną. Ponadto nie stwierdzono zaburzeń koordynacji ruchowej, istotnych zmian parametrów krążeniowo-oddechowych, takich jak wentylacja minutowa, ciśnienie tętnicze, na które wpływać mogą opioidy (depresja oddechowa) oraz neurotensyna (hipotensja). Ważnym problemem w terapii przewlekłego bólu jest rozwój tolerancji na morfinę. W badaniu hybrydy PK23 rozwój tolerancji na działanie był opóźniony w porównaniu do podawanej w równoważnej dawce morfiny.

Obowiązek recenzenta nakazuje mi zwrócić uwagę Autorce, że w pracy pojawiły się pojedyncze błędy literowe, które można bez problemu poprawić przy przygotowaniu pracy do druku.

Praca ta, co jest również istotne, poza wartościami poznawczymi na wysokim 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 farm. Karoliny Frączek do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Warszawa, 14 sierpnia 2020 r.



.....