



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

Kraków, 21.06.2021

Recenzja
rozprawy doktorskiej mgr Aleksandry Szewczyk, pt.
„OCENA WŁAŚCIWOŚCI NEUROPROTEKCYJNYCH ORAZ WPŁYWU NA
NEUROGENEZĘ NOWEJ POCHODNEJ KWASU
2-(2,5-DIOKSOPiROLIDYNO-1-YLO)-2-PROPANOWEGO ORAZ
WYBRANYCH LEKÓW PRZECIWPADACZKOWYCH W BADANIACH *IN*
***VIVO*”**,

wykonanej w Samodzielnej Pracowni Analiz Izobolograficznych Instytutu Medycyny Wsi im. Witolda
Chodźki w Lublinie

1. Podstawa formalna opracowania recenzji:

Recenzja została opracowana na zamówienie Dyrektora Instytutu Medycyny Wsi im. Witolda Chodźki w Lublinie, prof. nzw. dr. hab. n. med. Lecha Panasiuka, na podstawie uchwały Rady Naukowej Instytutu Medycyny Wsi im. Witolda Chodźki w Lublinie z dnia 1 marca 2019 roku.

2. Tematyka rozprawy i uzasadnienie podjęcia tematu badań

Padaczka to jedno z najczęściej występujących zaburzeń neurologicznych na świecie. W Polsce na padaczkę choruje ok. 400 tys. osób. Ta przewlekła choroba charakteryzująca się występowaniem samoistnych, spontanicznych napadów drgawkowych będących wyrazem nadmiernej pobudliwości neuronów mózgu, jest zespołem symptomów neurologicznych współistniejących z zaburzeniami psychicznymi, wegetatywnymi i somatycznymi, które pojawiają się na skutek uwarunkowań genetycznych, zmian morfologicznych i metabolicznych w mózgu. Napady padaczkowe są zatem niezwykle niejednorodną grupą objawów, co sprawia, że poprawne zdiagnozowanie występujących u chorych zaburzeń, jak i wdrożenie optymalnego leczenia są w wielu przypadkach trudne i wymagają ogromnego doświadczenia ze strony lekarza prowadzącego takiego pacjenta. Co szczególnie istotne, w ostatnich latach podkreśla się rolę nie tylko zmian neurologicznych, ale i konsekwencji psychiatrycznych padaczki. Zarówno jedno, jak i drugie mogą znacząco pogarszać funkcjonowanie osoby chorej na padaczkę.

Postęp w leczeniu padaczki jest związany m.in. z rosnącą wiedzą na temat procesu epileptogenezy oraz efektów farmakologicznych dostępnych leków przeciwpadaczkowych (LPP),

wprowadzeniem nowych LPP, zidentyfikowaniem nowych celów terapeutycznych i stosowaniem metod nefarmakologicznych leczenia padaczki. Pomimo tego, terapia padaczki jest wciąż niedoskonała, a główne jej problemy obejmują na przykład właściwą diagnozę napadu, zespołu padaczkowego, determinującą dobór skutecznego leku przeciwdrgawkowego, lekooporność obserwowaną u ok. 30% pacjentów, interakcje między LPP i innymi lekami, czy działania niepożądane LPP, do których należą m.in. neurotoksyczność, w tym niekorzystny wpływ na procesy poznawcze. Przy doborze LPP istotne znaczenie może mieć również wiek pacjenta i jego choroby współistniejące. Istotnym klinicznie jest również fakt, że na dzień dzisiejszy brak LPP działających przyczynowo – substancji hamujących epileptogenezę, a leczenie padaczki, mimo wprowadzenia na rynek farmaceutyczny trzech generacji LPP, stanowiących prawie 30 aktywnych farmakologicznie związków, pozostaje wciąż leczeniem objawowym.

Stąd też, pomimo dostępności wielu LPP, w tym leków działających jednocześnie w oparciu o kilka mechanizmów, istnieje potrzeba poszukiwania nowych, aktywnych przeciwdrgawkowo związków chemicznych. Związki takie mogłyby być obiecującymi „kandydatami” na nowe LPP.

Przedmiotem recenzowanej rozprawy doktorskiej mgr Aleksandry Szewczyk, asystenta w Samodzielnej Pracowni Analiz Izobolograficznych Instytutu Medycyny Wsi im. Witolda Chodźki w Lublinie, są badania farmakologiczne nowego związku chemicznego oznaczonego symbolem C-11, pochodnej kwasu 2-(2,5-dioksopirolidyn-1-ylo)-2-propanowego, będącej hybrydowym związkiem – połączeniem fragmentów strukturalnych trzech znanych LPP: etosuksymidu, lewetyracetamu i lakozamidu. Związek ten, zaprojektowany przez dr. hab. Krzysztofa Kamińskiego, prof. UJ, pracownika Wydziału Farmaceutycznego Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie, w przeprowadzonych wcześniej badaniach przedklinicznych wykazał istotną aktywność przeciwdrgawkową w trzech modelach drgawek, uznawanych za „złoty standard” badania związków o spodziewanej aktywności przeciwdrgawkowej, tj. testach MES, 6-Hz i drgawkach indukowanych podskórnym podaniem kardiazolu.

Praca doktorska mgr Aleksandry Szewczyk wykonana została pod kierownictwem naukowym pani dr hab. n. med. Marty Andres-Mach, prof. IMW – promotora pracy oraz pana dr. n. biol. Mirosława Zagaji – promotora pomocniczego. Przedstawione w pracy badania zostały opublikowane w renomowanym czasopiśmie *Neuropharmacology* w roku 2020 (Andres-Mach M, Szewczyk A, Zagaja M, Luszczki J, Maj M, Rola R, Abram M, Kaminski K. Evaluation of the impact of compound C11 a new anticonvulsant candidate on cognitive functions and hippocampal neurogenesis in mouse brain. doi: 10.1016/j.neuropharm.2019.107849).



3. Charakterystyka rozprawy

Rozprawa napisana jest w języku polskim, składa się z 11 rozdziałów, w tym spisu literatury, obejmującego 257 pozycji. Spis literatury został zaprezentowany w porządku alfabetycznym, w przeważającej części zawiera on najnowsze pozycje - 9 polskich, pozostałe w języku angielskim, z zakresu neurobiologii i farmakologii padaczki i zagadnień pokrewnych. Wykaz literatury zredagowany został jednolicie i bez większych błędów.

Całość pracy doktorskiej przedstawiona jest na 121 stronach. Rozprawa ma typowy dla prac doktorskich układ rozdziałów stanowiących logiczną całość. Zawiera 24 ryciny oraz 3 tabele przedstawiające mechanizmy działania dostępnych LPP, wybrane dane metodologiczne oraz niektóre uzyskane wyniki. Przed złożeniem rozprawy Doktorantka opublikowała 1 pracę obejmującą wyniki badań przedstawione w rozprawie doktorskiej (rozdział XI – Piśmiennictwo, pozycja 10).

Rozprawa doktorska, której autorką jest mgr Aleksandra Szewczyk rozpoczyna się **rozdziałem pierwszym** stanowiącym wprowadzenie do podjętej w pracy tematyki. Doktorantka przedstawiła w nim przegląd literatury dotyczącej ogólnej charakterystyki zaburzeń padaczkowych – definicję, klasyfikację napadów, najważniejsze przyczyny choroby i kluczowe objawy. Opisała etiopatogenezę zaburzeń drgawkowych, koncentrując się na zaburzeniach równowagi pomiędzy układem neuroprzekazników pobudzających (glutaminian) i hamujących (kwas γ -aminomasłowy). Zaprezentowała również dane literaturowe dotyczące roli diagnostyki padaczki oraz terapii tego schorzenia, wskazując dodatkowo na możliwe powikłania takiej terapii. We Wstępie, Doktorantka bardzo szczegółowo scharakteryzowała zjawiska neurogenezy i neuroprotekcji, wskazując na związek zaburzeń w obrębie tych procesów z powstawaniem napadów padaczkowych. Opisała też najczęściej używane w procesie poszukiwania nowych LPP zwierzęce modele padaczki, a na końcu rozdziału scharakteryzowała badany związek i leki referencyjne, które badała w ramach pracy doktorskiej (etosuksymid, lewetyracetam i lakoamid). Wstęp zawiera 8 rycin. Jest on napisany jest w sposób interesujący i przejrzysty; stanowi on bardzo dobre wprowadzenie do dalszej części rozprawy.

W **rozdziale drugim** Doktorantka opisała szczegółowo cel podjęcia badań i uzasadniła dlaczego zdecydowała się podjąć oceny aktywności związku C-11. Wskazała, że badania obejmowały (1) ocenę jakościową degeneracji i apoptozy komórek nerwowych po podaniu przewlekłym C-11 i referencyjnych LPP u myszy, (2) ocenę jakościową i ilościową procesu neurogenezy po przewlekłym podaniu ww. substancji u myszy, (3) test behawioralny oceniający wpływ C-11 na uczenie i pamięć przestrzenną, (4) przyżyciową ocenę neurogenezy techniką rezonansu magnetycznego i (5) jakościową analizę właściwości neuroprotekcyjnych badanych związków (C-11 i lewetyracetam) w warunkach indukowanej pilokarpiną neurodegeneracji mózgu myszy.

W mojej opinii cel ten został sformułowany w sposób przejrzysty, a zaplanowane zadania badawcze służące realizacji celu doświadczenia zostały dobrane w sposób logiczny. Dalsza część rozprawy doktorskiej jest konsekwentnym nawiązaniem do postawionej hipotezy badawczej.

W **rozdziale trzecim** Doktorantka opisała metodykę badań i wykorzystane do badań materiały (zwierzęta – samce myszy C57BL/6J, odczynniki użyte do wykonania badań). Wskazała, że część eksperymentalną podzieliła na dwa zadania badawcze, z których eksperyment I miał na celu ocenę wpływu przewlekłego podawania związku C-11 i wybranych LPP na degenerację i apoptozę komórek nerwowych i neurogenezę u myszy, jak i ocenę wpływu badanego związku C-11 na procesy uczenia i pamięci w teście labiryntu wodnego Morrisa. Z kolei eksperyment II polegał na jakościowej ocenie działania ochronnego związku C-11 oraz LPP na neurony poddane działaniu pilokarpiny, która jest czynnikiem indukującym neurodegenerację u myszy. Rozdział trzeci zawiera 6 rycin i 1 tabelę. Rozdział ten kończy się opisem wykorzystanych do analizy danych testów statystycznych.

Rozdział czwarty jest rozdziałem kluczowym dla całej rozprawy. Doktorantka przedstawiła w nim wyniki badań. Poza szczegółowym opisem uzyskanych dla związku C-11, etosuksymidu, lewetyracetamu i lakoamidu danych, Doktorantka przedstawiła wyniki badań na rycinach (Ryc. 15-24).

Rozdział piąty stanowi wnikliwa dyskusja wyników uzyskanych badań. Rozpoczyna się ona krótkim opisem, w którym Doktorantka przytoczyła dane dotyczące problemu lekooporności padaczki oraz możliwych konsekwencji tego zjawiska. Następnie omówiła wyniki badań. Dane te każdorazowo odnosiła do wyników uzyskanych przez innych badaczy. W mojej opinii Dyskusja prowadzona jest w sposób wnikliwy, płynny i logiczny, a wnioski dotyczące rezultatów przeprowadzonych doświadczeń są poprawne i poparte danymi literaturowymi z ostatnich lat.

Rozdział szósty to wnioski końcowe - krótkie podsumowanie poprzednich dwóch rozdziałów oraz przedstawienie najważniejszych osiągnięć wynikających z prowadzonych badań.

Rozdział siódmy to streszczenie w języku polskim. **Rozdziały ósmy** to streszczenie w języku angielskim. **W rozdziale dziewiątym** przedstawiono użyte w rozprawie doktorskiej skróty. **Rozdział dziesiąty** to spis rycin (24 ryciny) i tabel (3 tabele) zawartych w rozprawie, a **rozdział jedenasty** to spis piśmiennictwa cytowanego w pracy doktorskiej.

4. Najważniejsze osiągnięcia rozprawy

Uzyskane przez Doktorantkę wyniki badań, rzetelnie poparte danymi literaturowymi, wskazują, że przewlekłe (10-dniowe), dootrzewnowe podawanie związku C-11 oraz wybranych LPP: etosuksymidu, lewetyracetamu i lakoamidu, nie powodowało degeneracji, ani apoptozy komórek nerwowych zwierząt eksperymentalnych.

Dodatkowo, wnikliwa analiza wyników zaprezentowanych w recenzowanej pracy pozwala stwierdzić, że spośród badanych substancji, w zastosowanych dawkach, jedynie lakozamid powodował zaburzenia uczenia i pamięci przestrzennej mierzone w teście labiryntu wodnego Morrisa. Jedynie lakozamid obniżał neurogenezę, podczas gdy pozostałe badane związki nie zaburzały procesu proliferacji i różnicowania się nowo powstałych komórek nerwowych w mózgu myszy.

C-11 i etosuksymid nie powodują zmian w poziomie niektórych neurometabolitów ważnych dla procesu neurogenezy. Pozostałe badane leki – lewetyracetam i lakozamid, podwyższają poziom N-acetyloasparagianinu, co może wynikać z „efektu odbicia” po terapii LPP.

Dla C-11 nie wykazano działania neuroprotekcijnego. Spośród badanych leków takie działanie wykazuje natomiast lewetyracetam.

Podsumowując, w przeprowadzonych w ramach pracy doktorskiej eksperymentach, mgr Aleksandra Szewczyk wykazała, iż związek C-11 może być obiecującym „kandydatem” na nowy LPP. W zaprezentowanych doświadczeniach na modelu mysim związek ten nie zaburzał procesu neurogenezy, ani nie miał niekorzystnego wpływu na procesy poznawcze.

Przedstawione w rozprawie osiągnięcia świadczą o wysokich kompetencjach naukowych Doktorantki.

5. Uwagi do rozprawy

Przygotowując rozprawę doktorską Doktorantka nie zdołała uniknąć pewnych błędów. Uwagi przedstawione poniżej to uwagi o charakterze ogólnym, które są zarówno pytaniami do Doktorantki, komentarzami, jak również kwestiami wymagającymi wyjaśnienia i doprecyzowania:

1. Wstęp:

- W podrozdziale 1.5 pojawia się informacja, z której wynika, że jednym z obecnie stosowanych klasycznych LPP jest bromek potasu. Bromek potasu obecnie nie jest stosowany jako LPP.
- Na str. 16 Doktorantka napisała, że LPP nowej generacji zostały zaprojektowane tak, aby działać selektywnie na mechanizm, który odpowiada za wystąpienie napadów. To stwierdzenie wymaga wyjaśnienia i uzasadnienia przez Doktorantkę. Biorąc pod uwagę, że do LPP nowej generacji należą topiramata, lakozamid, czy zonisamid – leki o wielu mechanizmach działania przeciwdrgawkowego, to stwierdzenie jest nieprawdziwe. Co więcej, patogeneza padaczki w przypadku większości zespołów i napadów jest wieloczynnikowa, zatem projektowanie związków działających selektywnie na pojedynczy mechanizm odpowiadający za epileptogenezę, zamiast być postępowaniem w farmakoterapii tej choroby, byłoby znaczącym

„krokiem w tył”. Zaprzeczeniem tej informacji zawartej w rozprawie na str. 16 są również dane przedstawione w Tab. 1 (str. 18).

- W Tab. 1 wymieniono LPP i przedstawiono ich mechanizmy działania. Nie wspomniano, że lakozamid działa (oprócz blokowania kanałów sodowych) poprzez wiązanie się z białkiem CRMP-2. Takiej informacji również zabrakło na str. 33. Dodatkowo, w tej tabeli osobno opisano ezogabinę i retigabinę, podczas gdy są to nazwy jednej i tej samej substancji chemicznej (Gunthorpe MJ, Large CH, Sankar R. The mechanism of action of retigabine (ezogabine), a first-in-class K⁺ channel opener for the treatment of epilepsy. *Epilepsia*. 2012;53(3):412-24. doi: 10.1111/j.1528-1167.2011.03365.x).

- W podrozdziale 1.7, dotyczącym działań niepożądanych LPP, Doktorantka cytuje pracę Zaccara i Perruca (2015), ale nieprawidłowo opisuje typ E działań niepożądanych przedstawiony w tej pracy w rozdziale 20. Typ E działań niepożądanych to działania wynikające nie z odstawienia leku a z interakcji, o czym mowa na str. 277 tej publikacji.

2. Materiały i metodyka:

- W opisie schematu badań, w eksperymencie I serii B (str. 39), zabrakło informacji o teście behawioralnym, który był istotnym elementem całego doświadczenia i wskazano go na Ryc. 10. Takiej informacji brakuje też na str. 45, gdzie Doktorantka opisuje metodykę badań w eksperymencie I serii A i B. Informacja o teście wykonanym na zwierzętach serii B znajduje się dopiero na str. 46.

- Opis metody wykonania testu behawioralnego, labiryntu wodnego Morrisa – szkoda, że Doktorantka nie podała źródła literaturowego, z którego korzystała wykonując test. Moje wątpliwości budzi przede wszystkim stwierdzenie, że „przez 2 dni treningu platforma była widoczna, natomiast przez 3 kolejne ukryta pod wodą”. Czy ten czas (5 dni) był fazą uczenia (fazą nabycia – ang. *acquisition phase*), a dzień 6 stanowił fazę odtworzenia (ang. *memory retrieval phase*)?

- W sekcji 3.2.2, na str. 42, wskazano, że w badaniach użyto metyloskopolaminy, natomiast na str. 55 mowa o podaniu skopolaminy, mającej zapobiegać obwodowym efektom cholinergicznym po podaniu pilokarpiny. Stąd prośba o wyjaśnienie, jaka forma skopolaminy była faktycznie użyta w badaniach, bo jest to kwestia kluczowa dla wystąpienia pożądanego efektu tej substancji.

- Skąd pochodzą przedstawione na str. 55 dane dotyczące czasu występowania maksymalnego efektu badanych związków?

3. Wyniki:

– W tej części pracy, w opisie wyników uzyskanych dla badanych związków w teście labiryntu wodnego Morrisa, nie wskazano, którego dnia testu dotyczy opis wyników. Podobnie, nie wskazano, dla którego dnia zaprezentowano wyniki na Ryc. 17. Co było powodem tego, że w opisie nie uwzględniono porównania latencji odnalezienia platformy (ang. *escape latency*) w dniach 1-5, a zamiast tego porównywano latencje w poszczególnych kwadrantach? Czy na wykresach zaprezentowano średnie ze wszystkich czterech prób wykonywanych w danym dniu badania? Podobne uwagi dotyczą też innych parametrów mierzonych w teście labiryntu wodnego Morrisa (dystans pokonany przez zwierzęta – Ryc. 18 oraz procent czasu spędzony w *W-Channel* – Ryc. 19) oraz przedstawionych na Ryc. 20 trajektorii ruchu (nie wskazano, którego dnia, ewentualnie której próby dotyczą przedstawione zapisy).

4. Dyskusja:

- Dyskusja prowadzona jest w sposób płynny i uporządkowany; należałoby w niej jednak zaakcentować, że dostępne LPP działają wyłącznie objawowo, bez wpływu hamującego na proces epileptogenezy i ta kwestia również (obok lekooporności padaczki i działań niepożądanych dostępnych LPP) należy do kluczowych problemów farmakoterapii padaczki.

- w Dyskusji, na str. 73 znalazła się informacja dotycząca wcześniej prowadzonych badań związku C-11. Wskazano, że związek ten badano w innych niż labirynt wodny Morrisa testach oceniających aktywność prokognitywną. Czy Doktorantka może wyjaśnić, dlaczego dawki związku C-11 użyte w teście biernego unikania były inne niż dawka, której działanie oceniane było w teście labiryntu wodnego Morrisa?

- W podsumowaniu Dyskusji szkoda, że Doktorantka nie rozwinęła interesującego stwierdzenia dotyczącego wykazanej uprzednio aktywności związku C-11 w różnych testach aktywności przeciwdrgawkowej, wskazującej na różne cele molekularne odpowiadające za działanie tej substancji. Stąd prośba o komentarz.

- Doktorantka wskazuje w tym miejscu, że związek C-11 jest obiecującym „kandydatem” na LPP. Czy zdaniem Doktorantki profil aktywności związku C-11 wskazuje na jego działanie objawowe, czy przyczynowe - hamujące proces epileptogenezy?

5. Wnioski końcowe:

- W tym miejscu, w punkcie 2 należałoby doprecyzować, że C-11, etosuksymid i lewetyracetam nie powodowały zaburzeń uczenia się, pamięci i orientacji przestrzennej u myszy, co wskazuje, że badane związki nie powodują deficytów poznawczych, a nie jak Doktorantka napisała „co potwierdza brak skutków ubocznych”. Profil bezpieczeństwa ww. związków nie był badany w ramach niniejszej pracy doktorskiej.

6. Wykaz skrótów:



- Został on przedstawiony w porządku alfabetycznym; spis ten znacząco ułatwia analizę rozprawy, jednak byłby bardziej użyteczny, gdyby znajdował się na początku rozprawy, na przykład zaraz po spisie treści. W tej części należałoby doprecyzować, że ED₅₀ to mediana dawki skutecznej (a nie dawka skuteczna); analogiczna uwaga odnośnie TD₅₀.

Drobne uwagi redakcyjne

Pragnę zaznaczyć, że poniższe uwagi redakcyjne nie mają istotnego wpływu na ocenę merytoryczną pracy i nie komplikują jej odbioru.

- Praca napisana jest poprawnym językiem, jedynie w niektórych miejscach pojawiają się błędy literowe (np. str. 7, 8, 12, 14, 16, 22, 24-27, 29, 74, 76 77, 79, 84, 86).
- Dyskutując wyniki zawarte w rozprawie doktorskiej Doktorantka wielokrotnie używa sformułowań takich jak „nasze badania”, „badania wykonane przez nas”, „nasze doświadczenia”, itp. Mając świadomość, iż prowadzone obecnie badania farmakologiczne są często badaniami interdyscyplinarnymi, w których prowadzenie zaangażowane są całe zespoły badawcze i niemożliwym byłoby wykonanie ich przez jedną osobę, recenzent zauważa, iż w rozprawie doktorskiej, dla podkreślenia istotnego wkładu pracy Doktorantki, bardziej właściwe byłoby używanie formy bezosobowej, np. „badania wykazały”, „wyniki przeprowadzonych badań wskazują na...”, „wyniki przeprowadzonych doświadczeń”, itp.
- Skrót wyjaśnione przy pierwszym użyciu powinny być konsekwentnie używane w dalszych częściach pracy, np. na str. 10, 13, 14, 24 (jony sodowe i wapniowe – pełna nazwa i symbole pierwiastków, a w dalszej części pracy pełna nazwa); na str. 38, 40, 42 pełna nazwa „pilocarpina” (a skrót był wskazany na str. 26), czy pełna nazwa i skrót dla pilokarpiny na str. 55.
- Termin „neurotransmisja glutaminergiczna” (str. 7, 16) i „układ glutaminergiczny” – poprawnym terminem jest „neurotransmisja glutaminianergiczna” oraz „układ glutaminianergiczny”, ponieważ terminy te odnoszą się do układu, w którym przekąźnikiem jest glutaminian (a nie glutamina).
- W niektórych częściach pracy doktorskiej Doktorantka nie zdołała uniknąć powtórzeń pewnych informacji - np. na str. 10 powtórzona została informacja ze str. 7 dotycząca zaburzeń równowagi pomiędzy neuroprzekąźnikami pobudzającymi i hamującymi w mózgu jako podłożem padaczki; na str. 24 powtórzono informacje ze str. 10-11; powtórzenia informacji o zastosowanej dawce C-11 – dwukrotnie na str. 45; dawka pilokarpiny użyta w badaniach jest powtarzana w kilku miejscach rozprawy, w tym na str. 70.
- W rozprawie pojawiają się nieliczne, dość niefortunne sformułowania: str. 10 – „receptor AMPA kształtuje kanały jonowe przepuszczalne dla jonów”, „receptor NMDA przewodzi kationy”; na str. 36: „związek posiada korzystne mediany dawek skutecznych ED₅₀”; na str. 40, na Ryc. 11 oraz na str. 55 –

sformułowanie „na szczycie działania leków”; na str. 56, 59, jak i w opisie rycin (Ryc. 15, 16) pojawia się określenie „zdrowe myszy kontrolne” – właściwszym określeniem byłoby „myszy kontrolne”; zamiast „opóźnienia poznawcze” powinny być „zaburzenia/deficyty poznawcze”; na str.73 zamiast „zaciemniona część pomieszczenia” należałoby napisać „ciemny kompartment” aparatu do testu biernego unikania; na str. 81 zamiast określenia „jednostronnie ukierunkowane leki” powinno być raczej sformułowanie „leki działające poprzez jeden mechanizm działania”.

- Dla testu pręta obrotowego należało użyć polskiej nazwy a nie angielskiej (*rotarod*) – str. 29, 30.

- Na str. 75, w opisie stężeń etosuksymidu podano jednostkę „ μm ” (zamiast „ μM ”).

6. Ogólna ocena rozprawy

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska, której autorką jest mgr Aleksandra Szewczyk skupia się na bardzo interesującym zagadaniu naukowym jakim jest poszukiwanie nowych LPP. W mojej ocenie badania są ciekawe i niezwykle istotne w sensie nie tylko naukowym, ale i potencjalnie użytecznym, szczególnie z uwagi na wysoką lekooporność padaczki oraz działania niepożądane dostępnych obecnie LPP. Zaprezentowane w pracy doktorskiej wyniki badań mogą być pomocne w wytyczeniu kierunków poszukiwania nowych LPP.

Cele założone na wstępie pracy były konsekwentnie realizowane i w mojej ocenie zostały osiągnięte. Doświadczenie Doktorantki w zakresie wykorzystania różnych metod badawczych 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. Rozprawa wnosi istotny wkład naukowy do farmakologii padaczki, a Doktorantka wykazała się nie tylko praktyczną umiejętnością prowadzenia badań naukowych, ale i zdolnością wnikliwej dyskusji dotyczącej różnych aspektów powstawania zaburzeń padaczkowych.

Podsumowując, uważam, że przedłożona do recenzji rozprawa doktorska, której autorką jest mgr Aleksandra Szewczyk spełnia wymagania stawiane rozprawom doktorskim przez Ustawę z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2020 r. poz. 85 z późn. zm.). Dlatego stawiam wniosek o przyjęcie i dopuszczenie przez Radę Naukową Instytutu Medycyny Wsi im. Witolda Chodźki w Lublinie pracy doktorskiej mgr Aleksandry Szewczyk do publicznej obrony.

Jednocześnie, z uwagi na rangę podjętej tematyki, kompetencje Doktorantki, nowatorski charakter prowadzonych badań, opublikowanie uzyskanych wyników w renomowanym czasopiśmie farmakologicznym, umiejętność prowadzenia interesującej dyskusji oraz znaczenie uzyskanych wyników dla rozwoju badań nad farmakoterapią padaczki, zwracam się z wnioskiem do Wysokiej Rady Naukowej Instytutu Medycyny Wsi im. Witolda Chodźki w Lublinie o wyróżnienie



rozprawy doktorskiej Pani mgr Aleksandry Szewczyk zatytułowanej „Ocena właściwości neuroprotekcyjnych oraz wpływu na neurogenezę nowej pochodnej kwasu 2-(2,5-dioksopirolidyno-1-ylo)-2-propanowego oraz wybranych leków przeciwpadaczkowych w badaniach *in vivo*”, wykonanej pod kierownictwem naukowym Promotora, Pani dr hab. n. med. Marty Andres-Mach, prof. IMW i Promotora pomocniczego, Pana dr n. biol. Mirosława Zagaji.

Kinga Satał