

Recenzja

w postępowaniu w sprawie nadania stopnia doktora habilitowanego dr. Mirosławowi Zagai
w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki o zdrowiu

Podstawy prawne oceny

Na dzień wszczęcia postępowania habilitacyjnego Pana Doktora Mirosława Zagai obowiązują przepisy prawa ujęte w artkule 219, ust.1, pkt 1-3 Ustawy Prawo o Szkolnictwie Wyższym i Nauce z dnia 20 lipca 2018r., gdzie mowa o warunkach nadania stopnia doktora habilitowanego.

Zgodnie z ustawą:

Ust. 1. Stopień doktora habilitowanego nadaje się osobie, która:

- 1) posiada stopień doktora;
- 2) posiada w dorobku osiągnięcia naukowe albo artystyczne, stanowiące znaczny wkład w rozwój określonej dyscypliny, w tym co najmniej:
 - a) 1 monografię naukową wydaną przez wydawnictwo, które w roku opublikowania monografii w ostatecznej formie było ujęte w wykazie sporządzonym zgodnie z przepisami wydanymi na podstawie art. 267 ust. 2 pkt 2 lit. a, lub
 - b) 1 cykl powiązanych tematycznie artykułów naukowych opublikowanych w czasopismach naukowych lub w recenzowanych materiałach z konferencji międzynarodowych, które w roku opublikowania artykułu w ostatecznej formie były ujęte w wykazie sporządzonym zgodnie z przepisami wydanymi na podstawie art. 267 ust. 2 pkt 2 lit. b, lub
 - c) 1 zrealizowane oryginalne osiągnięcie projektowe, konstrukcyjne, technologiczne lub artystyczne;
- 3) wykazuje się istotną aktywnością naukową albo artystyczną realizowaną w więcej niż jednej uczelni, instytucji naukowej lub instytucji kultury, w szczególności zagranicznej.

Ust. 2. Osiągnięcie, o którym mowa w ust. 1 pkt 2, może stanowić część pracy zbiorowej, jeżeli opracowanie wydzielonego zagadnienia jest indywidualnym wkładem osoby ubiegającej się o stopień doktora habilitowanego.

Ust. 3. Obowiązek publikacji nie dotyczy osiągnięć, których przedmiot jest objęty ochroną informacji niejawnych.

Podstawowe dane o kandydacie

Pan Doktor Mirosław Zagaja jest doktorem nauk biologicznych, w związku z czym spełnia pierwszy wymóg dla ubiegania się o stopień doktora habilitowanego określony w w/w art. 219, ust.1, pkt 1-3 Ustawy Prawo o Szkolnictwie Wyższym i Nauce.

Stopień doktora nauk biologicznych w dyscyplinie biologia otrzymał w 2012 roku na mocy uchwały Rady Wydziału Biologii i Biotechnologii Uniwersytetu Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie, za rozprawę doktorską pt.: „*Morfologia stadiów rozwojowych, biologia oraz wybrane aspekty genetyki populacyjnej myrmekofilnego gatunku *Thiasophila angulata* (Erichson, 1837) (Coleoptera; Staphylinidae)*”.

Pan Doktor nie ubiegał się dotychczas o nadanie stopnia doktora habilitowanego.

W latach 2007 – 2011 był doktorantem w Zakładzie Zoologii, Wydziału Biologii i Nauk o Ziemi Uniwersytetu Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie. Od 2012 roku jest związany z Samodzielną Pracownią Analiz Izobolograficznych w Instytucie Medycyny Wsi w Lublinie - w latach 2012 – 2016 jako asystent, od 2016 roku jako adiunkt w owej Jednostce.

Osiągnięcie naukowe stanowiące przedmiot postępowania habilitacyjnego

Przedmiotem w postępowaniu o nadanie stopnia doktora habilitowanego Panu Doktorowi nauk biologicznych Mirosławowi Zagaj jest cykl 5 publikacji opublikowanych w czasopiśmie z Listy Filadelfijskiej, o łącznym IF 15,311, łącznej liczbie punktów MNiSW 285.

Tytuł osiągnięcia to „*Wpływ wybranych kumaryn na ochronne działanie leków przeciwpadaczkowych w doświadczalnych modelach padaczki*”, czym, z formalnego punktu widzenia, wypełnia kolejny wymóg warunkujący ubieganie się o nadanie stopnia doktora habilitowanego, określony w Ust.1 pkt 2 Ustawy.

Dane naukometryczne

Pan Doktor na dzień wszczęcia postępowania habilitacyjnego, poza pięcioma publikacjami, stanowiącymi przedmiotowe osiągnięcie naukowe, ma na swym koncie współautorstwo w 52

pełnych publikacji, z których zdecydowana większość (tj.48) została opublikowana po uzyskaniu przez niego stopnia doktora.

W zdecydowanej większości zostały one opublikowane w recenzowanych czasopismach z Listy Filadelfijskiej.

Według danych potwierdzonych przez Bibliotekę Główną Uniwersytetu Medycznego w Lublinie, na dzień wszczęcia postępowania habilitacyjnego Pana Doktora Mirosława Zagai łączny Impact Factor jego prac wynosi 139,938, w tym IF prac opublikowanych po uzyskaniu stopnia doktora 134,899.

Łączna liczba punktów MNiSW za dorobek naukowy Pana Doktora to 3255,00, w tym po uzyskaniu stopnia doktora 3157 punktów.

Na dzień wszczęcia postępowania w sprawie nadania stopnia doktora habilitowanego, według bazy Web of Science Core Collection Kandydat posiadał 391 cytowań (287 bez autocytowań); index Hirsha = 12 z autocytowaniami.

Warte zaznaczenia jest, że poza kilkoma pracami przeglądowymi i jednym opisem przypadku, pozostałe publikacje Kandydata do stopnia doktora habilitowanego są pracami oryginalnymi. W zdecydowanej większości tych prac Pan Doktor miał znaczący udział w realizacji zadań badawczych i opracowaniu materiału do publikacji. W 13 pracach jest pierwszym autorem, w 22 drugim autorem.

Ocena wskazanego przez Kandydata osiągnięcia naukowego

Osiągnięcie naukowe wskazane przez Kandydata do stopnia doktora habilitowanego stanowi cykl powiązanych tematycznie artykułów naukowych opublikowanych w recenzowanych czasopismach naukowych, które w roku opublikowania artykułu w ostatecznej formie były ujęte w wykazie sporządzonym zgodnie z przepisami wydanymi na podstawie art. 267 ust. 2 pkt 2 lit. b ustawy *Prawo o Szkolnictwie Wyższym i Nauce*.

We wniosku o przeprowadzenie postępowania habilitacyjnego Pan Doktor wskazuje jako osiągnięcie naukowe cykl pięciu publikacji pod wspólnym tytułem *"Wpływ wybranych kumaryn na ochronne działanie leków przeciwpadaczkowych w doświadczalnych modelach padaczki"*.

Publikacje te są efektem zgłębiania przez Habilitanta właściwości przeciwdrgawkowych wybranych kumaryn, tj. ksantotoksyny i umbeliferonu, a także ich wpływu na działanie

klasycznych (starszych) i nowych leków przeciwpadaczkowych w zwierzęcych modelach padaczki.

Habilitant zwraca słusznie uwagę na fakt, że pomimo stale rosnącej liczby dostępnych leków przeciwpadaczkowych i ich dużej różnorodności, w ponad 30% przypadków spotykamy się z lekoopornością u chorych z padaczką, z koniecznością wprowadzenia u nich politerapii za pomocą dwóch lub większej liczby leków przeciwpadaczkowych. Taka terapia niesie za sobą zwiększone ryzyko wystąpienia skutków ubocznych utrudniających lub wręcz uniemożliwiających normalne funkcjonowanie. Nawracające napady padaczkowe, jak też same leki przeciwpadaczkowe mogą również przyczyniać się do postępującego obumierania komórek nerwowych. Dlatego niezwykle ważne jest, aby stosowane leki wykazywały również właściwości neuroprotekcyjne.

Stąd należy się zgodzić z podejmowaną przez Habilitanta potrzebą opracowania nowej klasy aktywnych związków, posiadających lepsze właściwości przeciwdrgawkowe, neuroprotekcyjne oraz mniejszą toksyczność. Taką rolę, w świetle przedstawionych przez Habilitanta danych, mogą mieć wspomniane wcześniej kumaryny. Przedmiotem badań Pana Doktora były właściwości ksantotoksyny i umbeliferonu.

W dwóch pierwszych publikacjach we wskazanym osiągnięciu naukowym (*Effect of xanthotoxin (8-methoxypsoralen) on the anticonvulsant activity of classical antiepileptic drugs against maximal electroshock-induced seizures in mice. Fitoterapia, 2015, 105, 1–6.* oraz *Influence of xanthotoxin (8-methoxypsoralen) on the anticonvulsant activity of various novel antiepileptic drugs against maximal electroshock-induced seizures in mice. Fitoterapia, 2016, 115, 86–91.*) głównym celem była ocena wpływu ksantotoksyny na ochronne działanie czterech klasycznych leków przeciwpadaczkowych (karbamazepiny, fenobarbitalu, fenytoiny i kwasu walproinowego), a także wybranych nowszych leków (lamotryginy, okskarbazepiny, topiramatu, lakozamidu i pregabaliny) w teście maksymalnego wstrząsu elektrycznego (MES), służącego głównie za eksperymentalny model napadów toniczno-klonicznych, ale także za model napadów częściowych z wtórnym uogólnieniem lub bez uogólnienia.

Wyniki tych prac wskazują na to, że ksantotoksyna podnosi przeciwdrgawkowe działanie karbamazepiny i kwasu walproinowego, ale nie fenytoiny i fenobarbitalu. Jednakże korzystne działanie wspomnianej kumaryny na te dwa leki przeciwpadaczkowe było prawdopodobnie spowodowane interakcjami farmakokinetycznymi, które znacznie

zwiększyły całkowite stężenia karbamazepiny i kwasu walproinowego w mózgu badanych zwierząt. W związku z tym Habilitant podaje, że zastosowanie ksantotoksyny jako dodatkowej substancji/leku w leczeniu napadów padaczkowych z tymi czterema klasycznymi lekami wymaga dalszych badań.

W świetle wyników przedstawionych w drugiej publikacji ksantotoksyna w połączeniu z nowszymi lekami przeciwpadaczkowymi znacznie nasilała przeciwdrgawkowe działanie lakoamidu, okskarbamazepiny, pregabaliny i topiramatu w teście MES poprzez redukcję mediany dawek skutecznych tych leków. Nie miała natomiast wpływu na ochronne działanie lamotryginy w przeprowadzonym teście. Kombinacje ksantotoksyny z okskarbamazepiną lub topiramatem nie powodowały działań niepożądanych u badanych zwierząt. W przypadku kombinacji ksantotoksyny z pozostałymi lekami działania takie były obserwowane. Analiza stężeń leków w homogenatach mózgow wykazała, że ksantotoksyna nie wpływała istotnie na całkowite stężenia badanych leków, co ma świadczyć o farmakodynamicznym charakterze interakcji pomiędzy badanymi substancjami.

Podjętym wnioskiem z pracy jest, że farmakodynamiczne podniesienie przeciwdrgawkowego działania okskarbamazepiny i topiramatu przez ksantotoksynę, przy braku działań niepożądanych, sprawia, że kombinacje tych leków są warte rozważenia, jako potencjalnie korzystne pod kątem dalszych badaniach klinicznych.

Kolejna z pięciu wskazanych publikacji (*Xanthotoxin enhances the anticonvulsant potency of levetiracetam and valproate in the 6-Hz corneal stimulation model in mice. Fundam. Clin. Pharmacol., 2022, 36(1):133-142.*), jest efektem kontynuacji badań Habilitanta i współautorów nad ksantotoksyną w modelu eksperymentalnym napadów ogniskowych.

W pracy poddano wpływ ksantotoksyny na ochronne działanie czterech wybranych leków przeciwpadaczkowych (lakoamidu, lewetiracetamu, pregabaliny i kwasu walproinowego) w modelu drgawek psychoruchowych u myszy. Analizie zostały poddane działania niepożądane ksantotoksyny w kombinacji z tymi lekami. Oceniono także stężenia wyżej wymienionych leków przeciwpadaczkowych w homogenatach mózgow myszy, w celu potwierdzenia lub wykluczenia profilu interakcji na poziomie farmakokinetycznym pomiędzy ksantotoksyną i badanymi lekami przeciwpadaczkowymi.

Ksantotoksyna w dawce 50 mg/kg istotnie statystycznie podnosiła przeciwdrgawkowe działanie lewetiracetamu i kwasu walproinowego, obniżając znacząco ich medianę dawek

skutecznych, nie generując działań niepożądanych. Stwierdzono, że kumaryna ta podnosiła stężenie kwasu walproinowego w mózgu badanych zwierząt, co świadczy o farmakokinetycznym charakterze interakcji. Nie zmieniała natomiast stężenia lewetiracetamu, co przemawia za jej interakcją farmakodynamiczną z tym lekiem. Wnioskiem płynącym z pracy jest, że stosowanie ksantotoksyny w połączeniu z lewetiracetamem, przy jednoczesnym braku skutków ubocznych i niekorzystnych interakcji farmakokinetycznych, jest korzystne z klinicznego punktu widzenia. Niezbędne są jednak dalsze badania, aby dokładnie zrozumieć mechanizm jej molekularnego działania i ocenić długoterminowe bezpieczeństwo klinicznego stosowania badanej substancji.

Kolejne dwie publikacje wskazanego cyklu dotyczą drugiej kumaryny, tj. umbeliferonu.

W pracy pt. *Assessment of the Combined Treatment with Umbelliferone and Four Classical Antiepileptic Drugs Against Maximal Electroshock-Induced Seizures in Mice*. *Pharmacology*, 2015, 96(3-4), 175–180., celem było określenie wpływu tej kumaryny na ochronne działanie 4 klasycznych leków przeciwpadaczkowych (karbamazepiny, fenobarbitalu, fenytoiny i kwasu walproinowego) w teście MES u myszy. Analizie poddano także wpływ umbeliferonu na całkowite stężenia tych leków w mózgach badanych zwierząt w celu określenia, czy obserwowane efekty w tym modelu padaczki eksperymentalnej miały charakter farmakodynamiczny i/lub farmakokinetyczny.

Przeprowadzone w pracy analizy wykazały, że sam umbeliferon w dawce 150 mg/kg podnosił próg drgawkowy u myszy. Ponadto w tej samej dawce nasilał istotnie statycznie działanie przeciwdrgawkowe fenobarbitalu i kwasu walproinowego w teście MES. Brak wpływu umbeliferonu na całkowite stężenie tych leków w mózgach badanych zwierząt, wskazuje na farmakodynamiczny profil interakcji pomiędzy tą kumaryną a badanymi lekami. Wnioskiem płynącym z przeprowadzonych badań jest, że selektywne wzmacnianie przeciwdrgawkowego działania fenobarbitalu i kwasu walproinowego przez umbeliferon oraz brak jakichkolwiek interakcji farmakokinetycznych między lekami sprawiają, że połączenie umbeliferonu z tymi lekami przeciwpadaczkowymi jest godne rozważenia u pacjentów z padaczką oporną na standardowe leczenie przeciwpadaczkowe.

Ostatnia praca pt. *Influence of Umbelliferone on the Anticonvulsant and Neuroprotective Activity of Selected Antiepileptic Drugs: an In Vivo and In Vitro Study*. *Int. J.*

Mol. Sci. 2022, 23, 3492., miała na celu ocenę wpływu umbeliferonu (UMB) na ochronne działanie wybranych leków przeciwpadaczkowych (lakoamid, lewetiracetam, fenobarbital, kwas walproinowy) w eksperymentalnym modelu napadów ogniskowych. Przeprowadzono również analizę działań niepożądanych umbeliferonu w kombinacji z badanymi lekami. Dodatkowo oceniono stężenia leków w homogenatach mózgow myszy, w celu potwierdzenia bądź wykluczenia profilu interakcji na poziomie farmakokinetycznym pomiędzy wspomnianą kumaryną a badanymi lekami przeciwpadaczkowymi. Przeprowadzono także ocenę właściwości neuroprotektoryjnych samej kumaryny oraz jej kombinacji z wybranymi lekami przeciwpadaczkowymi w dwóch modelach neurodegeneracji *in vitro*.

Umbeliferon w dawce 100mg/kg istotnie poprawiał działanie przeciwdrgawkowe fenobarbitalu i kwasu walproinowego, obniżając ich medianę dawek skutecznych. Nie obserwowano tego w odniesieniu do lakoamidu i lewetiracetamu. Leki podawane osobno, jak i w kombinacji z umbeliferonem nie powodowały działań niepożądanych. Ocena wpływu umbeliferonu na stężenie badanych leków w homogenatach mózgow u myszy nie wykazała istotnego statystycznie wpływu tej kumaryny na ich stężenie, co świadczy o interakcji farmakodynamicznej pomiędzy tymi substancjami.

W pracy przeprowadzono ocenę właściwości neuroprotektoryjnych umbeliferonu oraz jego kombinacji z wybranymi lekami przeciwpadaczkowymi w dwóch modelach neurodegeneracji *in vitro*, obejmujących stres troficzny wywołany usunięciem z podłoża hodowlanego suplementu B27 i ekscytotoksyczność, wywołaną podaniem do podłoża hodowlanego 5 mM glutaminianu. Badania przeprowadzono na neuronach wyprowadzonych z ludzkich komórek neuroblastoma linii SH-SY5Y. Uzyskane wyniki wykazały korzystny wpływ umbeliferonu na żywotność neuronów; potwierdziły właściwości neuroprotektoryjne tej kumaryny w warunkach stresu troficznego i ekspozycji na toksyczność glutaminianu.

Testowane leki przeciwpadaczkowe, lewetiracetam, fenobarbital, kwas walproinowy w najwyższych badanych stężeniach (5 µg/mL) obniżały żywotność neuronów. Stwierdzono, że umbeliferon podawany w dawce 1 µg/mL (dawka, która nie zwiększa istotnie statystycznie żywotności komórek nerwowych w obu modelach neurodegeneracji) w kombinacji z tymi lekami łagodził ich negatywny wpływ na żywotność neuronów.

W warunkach stresu troficznego, jak i w obecności glutaminianu lakoamid, lewetiracetam i fenobarbital skutecznie zwiększały żywotność komórek nerwowych. Spośród badanych leków tylko kwas walproinowy nie wykazywał właściwości neuroprotektoryjnych w obu zastosowanych modelach neurodegeneracji *in vitro*. Zastosowanie umbeliferonu

w kombinacji z każdym z tych leków (też kwasem walproinowym) przynosiło korzystne efekty w tym zakresie. Habilitant pisze, że przeprowadzone badania wykazały, że stosowanie umbeliferonu w połączeniu z fenobarbitem i kwasem walproinowym, przy jednoczesnym braku skutków ubocznych i niekorzystnych interakcji farmakokinetycznych, jest korzystne z klinicznego punktu widzenia. Ponadto umbeliferon podnosił właściwości neuroprotektoryjne fenobarbitalu oraz kwasu walproinowego w obu zastosowanych modelach in vitro. Habilitant przedstawia uzyskane wyniki jako przyczyniające się do poszerzenia wiedzy na temat możliwości wzmocnienia przeciwdrgawkowego/neuroprotektoryjnego działania wybranych leków przeciwpadaczkowych, poprzez połączenie ich z naturalną substancją, jaką jest umbeliferon. Dodatkowo zaznacza, że wyniki mogą mieć znaczenie w kontekście bezpieczeństwa stosowania tych leków u pacjentów chorych na padaczkę.

W ocenie recenzenta, wprowadzenie do tematu, sposób przedstawienia przedmiotowego osiągnięcia naukowego, świadczą o rzeczywistym orientowaniu się Habilitanta w temacie padaczki, w badaniach nad lekami przeciwpadaczkowymi; przemawiają za doświadczeniem własnym Habilitanta w badaniach nad tymi lekami i substancjami mogącymi istotnie poprawić efekty leczenia przeciwpadaczkowego. Metodologia prac będąca podstawą do zaprezentowanych wyników zasługuje na wysokie uznanie.

Wszystkie publikacje składające się na wskazane osiągnięcie naukowe są pracami oryginalnymi. Zostały opublikowane w recenzowanych czasopismach o zasługującym na uznanie łącznym Impact Factor równym 15,311 i łącznej liczbie punktów MNiSW = 285 punktów. W każdej z nich Pan Doktor jest pierwszym autorem. Miał wiodący udział w ich powstaniu.

Są to prace powstałe w oparciu o badania eksperymentalne. Ich wyniki są bardzo obiecujące. Stanowią istotny wkład w poszerzenie wiedzy nad potencjalnymi nowymi możliwościami w terapii padaczki. Mogą stanowić inspirację do zgłębienia tematu w badaniach u ludzi, co w ocenie recenzenta może mieć istotne znaczenie dla dalszej poprawy efektywności leczenia chorych z padaczką.

Nie ma wątpliwości, że przedstawione osiągnięcie naukowe stanowi znaczny wkład w rozwój wskazanej na wstępie dyscypliny naukowej.

Ocena aktywności naukowej

Analiza aktywności naukowej Habilitanta daje pełne podstawy do stwierdzenia, że spełnia on kryterium dotyczące wykazania się istotną aktywnością naukową lub artystyczną.

Poza bogatą listą publikacji, Pan Doktor ma na swym koncie wiele doniesień prezentowanych na konferencjach międzynarodowych i krajowych. Jest autorem kilkunastu recenzji prac naukowych, w większości dla czasopism międzynarodowych.

Regularnie od 2013 roku ma udział w zespołach badawczych, realizujących projekty finansowane ze środków na naukę z ramienia NCN oraz ze środków pozyskanych w ramach konkursów z funduszy gospodarczych.

Ma doświadczenie w realizacji projektów realizowanych w ramach współpracy z innymi ośrodkami, takimi jak: Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, Instytut Ochrony Roślin w Poznaniu, Uniwersytet Medyczny w Lublinie, Uniwersytet Jagielloński w Krakowie, University of Utah (USA).

Warte zaznaczenia jest, że Habilitant ma również udział w prawach do trzech patentów.

Reasumując

Oceniam wysoko całokształt działalności naukowej Pana Doktora Mirosława Zagai. Uważam, że zainteresowanie naukowe Pana Doktora lekami przeciwpadaczkowymi, nowymi związkami, które mogą znaleźć zastosowanie w terapii przeciwpadaczkowej ma duże znaczenie nie tylko dla nauki, ale może przełożyć się na codzienną praktykę w opiece nad chorymi z padaczką.

Z pełnym przekonaniem stwierdzam, że Pan dr. n. biol. Mirosław Zagaja spełnia wymagania stawiane osobom kandydującym do nadania stopnia naukowego doktora habilitowanego w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki o zdrowiu, określonych w artkule 219, ust.1, pkt 1-3 Ustawy Prawo o Szkolnictwie Wyższym i Nauce.

W związku z powyższym wnoszę o dopuszczenie Pana Doktora Mirosława Zagaję do kolejnego etapu zmierzającego do nadania stopnia naukowego doktora habilitowanego.

1966516 dr. hab. n. med. Marta Masztalewicz
Masztalewicz Marta
specjalista neurolog, neuropatolog

