



Kraków, 18.07. 2016

## Ocena

### **rozprawy doktorskiej lek. med. Agnieszki Janowskiej pt. "Wpływ wybranych antagonistów receptora AT-1 dla angiotensyny II na aktywność przeciwdrgawkową niektórych klasycznych i nowych leków przeciwpadaczkowych w modelu uogólnionych drgawek toniczno-klonicznych u myszy".**

Padaczka jest przewlekłą chorobą neurologiczną, wymagającą od chorego regularnego przyjmowania leków przeciwpadaczkowych, a skuteczność jej farmakoterapii determinowana jest przez utrzymanie ich optymalnego stężenia we krwi pacjenta, które jednak może być modulowane przez interakcje z innymi grupami farmaceutyków stosowanych w terapii tzw. chorób towarzyszących. Problem ten szczególnie istotnego znaczenia nabiera u osób w starszym wieku u których współwystępowanie chorób jest bardzo częste. W tym kontekście schorzenia u podłoża których leży zaburzenie neurogennej regulacji układu krążenia, w tym nadciśnienie tętnicze, znajdują się w gronie wiodących. Tym samym oczywistym wydaje się fakt iż istnieje konieczności indywidualnego doboru farmakoterapii, która powinna uwzględniać że leczenie kardiologiczne może zmieniać częstość napadów padaczkowych i podudliwość drgawkową, a tym samym ograniczać efektywność leczenia padaczki. Dlatego też moim zdaniem w pełni zasadny wydaje się wybór tematu rozprawy doktorskiej lek med. Agnieszki Janowskiej, która postanowiła określić potencjalne interakcje pomiędzy wybranymi lekami przeciwpadaczkowymi - klasycznymi oraz nowej generacji, a losartanem i telmisartanem - antagonistami receptora AT-1 angiotensyny II w zwierzęcym modelu padaczki eksperymentalnej.

Praca doktorska napisana została zgodnie z ogólnie przyjętymi zasadami, składa się na nią 114 stron maszynopisu - podzielonego na rozdziały i podrozdziały, 13 rycin oraz 23 tabele.

Wstęp pracy jest bardzo obszerny i liczy aż 34 strony. W części wprowadzającej Autorka podaje podstawowe definicje padaczki oraz napadów padaczkowych, a także ich ogólną klasyfikację. Próbuje także w przystępny sposób omówić złożoną etiopatogenezę tego schorzenia, w tym uwzględniając rolę układu GABA-ergicznego i glutaminianergicznego oraz kanałów wapniowych i sodowych. W oparciu o dobrze dobrane piśmiennictwo, wskazuje także

na udział w powstawaniu i rozprzestrzenianiu się napadów drgawkowych innych układów neuroprzekaźnikowych jak acetylocholina, noradrenalina, dopamina, histamina czy też wybrane neuropeptydy. Kolejne podrozdziały wstępu poświęcono opisowi obecnie stosowanych leków przeciwpadaczkowych, które jak słusznie pisze Doktorantka powinny nie tylko skutecznie kontrolować i ograniczać liczbę oraz intensywność napadów, ale także wywierać stosunkowo ograniczone działania niepożądane. Pewien mój niedosyt budzi fakt, że w charakterystyce niektórych z nich np. kwas walproinowy czy karbamazepin nie zamieszczono informacji o ich potencjalnym zastosowaniu także w terapii innych chorób ośrodkowego układu nerwowego np. jako stabilizatory nastroju, tak jak uczyniono to w przypadku gabapentyny na str. 26.

Drugą część Wstępu Autorka rozpoczęła od rysu historycznego poświęconego nadciśnieniu tętniczemu, by na stronach kolejnych przejść do opisu neurogennej regulacji układu krążenia z uwzględnieniem układu GABA-ergicznego i glutaminianergicznego, a szczególnie roli układu renina-angiotensyna zarówno na obwodzie jak i w mózgu. Autorka dużo uwagi poświęciła na omówienie klasyfikacji receptorów angiotensyny II i wskazała na ich znaczenie w układzie nerwowym. Ostatnia część Wstępu stanowi kompendium wiedzy na temat leczenia nadciśnienia tętniczego, ze szczególnym naciskiem na terapię opartą o zastosowanie antagonistów receptora AT-1 dla angiotensyny II. Generalnie cały Wstęp napisano jasno i przejrzysto, a po korekcie nielicznych niedoskonałości językowych, które znalazły się w tej części pracy jak : „pojawił się w ich doświadczeniach” (str. 36) czy sformułowanie „ chciałam przypuszczalnie określić” (str. 44), może on w mojej ocenie stanowić gruntowne podłoże do osobnej pracy przeglądowej. Warto podkreślić, iż zastosowana konstrukcja Wstępu dobrze wprowadza i jednocześnie uzasadnia wybór celu rozprawy pracy doktorskiej lek med. Agnieszki Janowskiej, który w mojej ocenie pod względem merytorycznym nie budzi zastrzeżeń.

Realizacji celu pracy lek med. Agnieszki Janowskiej posłużyły dobrze dobrane modele doświadczalne, chociaż warto w tym miejscu wspomnieć, że maksymalny wstrząs elektryczny interpretowany jest często jako model pojedynczego napadu padaczkowego, a nie padaczki, podobnie jak jednorazowe podanie leków nieco odbiega od schematu długotrwałej farmakoterapii tego schorzenia stosowanej u pacjentów. Pomimo tych niewielkich ograniczeń, założenia pracy są prawidłowe, skupiają się bowiem na analizie podstawowych oddziaływań między lekami w uproszczonym, aczkolwiek akceptowanym w literaturze modelu doświadczalnym. Zamieszczony przez Autorkę w kolejnej części pracy opis procedur badawczych jest zwięzły chociaż nie zawsze wystarczająco jasny. Dla przykładu określenie, że leki podawane były „w stosownym (str. 46) czy w odpowiednim czasie (str. 48)” może budzić niedosyt. Z pewnością włączenie do pracy schematu podań leków (w miejsce opisu na str. 46) byłoby przydatne, a jednocześnie pomogłoby wyjaśnić nasuwające się wątpliwości czy antagoniści receptorów AT-1 angiotensyny II podawani byli w tym samym czasie, czy przed lekami przeciwdrgawkowymi, oraz dlaczego Doktorantka

zdecydowała się na ocenę badanych parametrów behawioralnych i biochemicznych w różnych odstępach czasowych po podaniach poszczególnych leków. Uważam także, że użyte przez Doktorantkę nie tylko zresztą w tej części pracy, określenie pamięć długoterminowa, jest nieco niefortunne i nie powinno być stosowane w miejsce poprawnego określenia - pamięć długotrwała. Pozostałe opisy metod nie budzą zastrzeżeń, gdyż w sposób rzetelny przedstawiają charakterystykę zwierząt, procedurę wyznaczania progu pobudliwości drgawkowej, przeprowadzania testu maksymalnego wstrząsu elektrycznego jak również wykorzystanych do oceny działań niepożądanych pomiarów zaburzeń funkcji motorycznych w teście komina i pamięci długotrwałej z wykorzystaniem testu biernego unikania u myszy.

W rozdziale Wyniki lek med. Agnieszka Janowska opisała w sposób jasny i zwięzły uzyskane rezultaty, wzbogacając tą część rozprawy o przystępnie wykonane 23 tabele pod którymi znalazły się wszelkie przydatne informacje dotyczące liczebności grup, zastosowanych porównań statystycznych jak i wyjaśnienia użytych skrótów, co świadczy o dojrzałości naukowej Autorki oraz umiejętności prezentowania wyników w sposób przemyślany i konsekwentny. Za najciekawsze z uzyskanych w pracy wyników uważam wykazanie, że zarówno losartan (50mg/kg) jak i telmisartan (30mg/kg) w dawkach samodzielnie nie wpływających na wartość progu drgawkowego podane w kombinacji z walproinianem magnezu zwiększały jego efektywność przeciwdrgawkową, a losartan jednocześnie podnosił poziom tego leku w surowicy krwi. Losartan nasilał także działanie przeciwdrgawkowe lamotryginy oraz gabapentyny, a telmisartan - topiramatu zwiększając jego stężenie nie tylko w surowicy krwi ale także w mózgu myszy. W swoich badaniach Autorka analizując wpływ antagonistów receptora AT-1 dla angiotensyny II pokazała także, że losartan w wyższej zastosowanej dawce podany łącznie z walproinianem, tiagabiną czy gabapentyną zaburzał koordynację ruchową, a nie wywoływał tego efektu w dawce niższej (30 mg/kg). Tym samym bezpieczniejsza wydaje się być politerapia z zastosowaniem telmisartanu, który jedynie w skojarzeniu z tiagabiną wykazał działanie niekorzystne w teście komina u myszy. Doktorantka nie wykazała natomiast wpływu wybranych leków w badanych kombinacjach na procesy pamięci długotrwałej w teście biernego unikania.

Interpretację uzyskanych wyników w oparciu o dostępne piśmiennictwo podjęto w liczącej 11 stron wydruku komputerowego Dyskusji i chociaż niektóre z jej partii przypominają opis uzyskanych wyników zamieszczonych w rozdziale wcześniejszym należy podkreślić, że sposób jej napisania świadczy o dobrej znajomości tematu przez Autorkę, która stara się w sposób obiektywny wyjaśnić prawdopodobne mechanizmy leżące u podstaw uzyskanych w rozprawie wyników. Zapoznając się z Dyskusją na stronie 77 znalazłam informację, iż „po podaniu obwodowym zarówno losartan jak i telmisartan przechodzą przez barierę krew-mózg”, którą poparto licznymi pozycjami literaturowymi.

Chciałabym prosić o wyjaśnienie dlaczego zatem na stronie 40 Wstępu napisano że: „w badaniach wykazano iż losartan nie przedostaje się przez barierę krew-mózgu”. Ta rozbieżność informacyjna w kontekście wyboru losartanu do przeprowadzonych w pracy badań, a szczególnie pomiaru jego stężenia w mózgu może budzić wiele dodatkowych pytań. Z obowiązku wspomnę także o błędach stylistycznych i gramatycznych w tej części manuskryptu (np. nasilali zamiast nasilały; zmieniali zamiast zmieniały, „czy to było podczas” (str.80)). Podkreślić należy natomiast fakt, że Doktorantka dostrzegła w Dyskusji ograniczenia w interpretacji uzyskanych rezultatów, zwłaszcza w odniesieniu do terapii prowadzonych u pacjentów, zaznaczając że przeprowadzone w pracy badania na obecnym etapie stanowić mogą ważne i niezbędne ogniwo do dalszych badań klinicznych.

Zamieszczone w końcowej części rozprawy Wnioski, a szczególnie punkty 1-8, są raczej jej podsumowaniem. Natomiast za Wniosek uznać należy z całą pewnością punkt 9, który jest słuszny i obiecujący zarazem, gdyż wskazuje na dość dobry profil bezpieczeństwa terapii skojarzonych z zastosowaniem telmisartanu i leków przeciwpadaczkowych. Pracę doktorską kończy streszczenie w języku polskim i angielskim oraz wykaz 225 pozycji piśmiennictwa.

Reasumując przedstawiona mi do oceny rozprawa doktorska lek med. Agnieszki Janowskiej jest wartościowa i wnosi nowe spojrzenie na niebadane dotychczas interakcje pomiędzy lekami przeciwpadaczkowymi, a antagonistami receptora AT-1 angiotensyny II, natomiast poczynione z obowiązku recenzenta drobne uwagi nie podważają jej wartości merytorycznej. Warto podkreślić, że walory poznawcze oraz aplikacyjne uzyskanych przez Autorkę wyników zostały docenione także przez recenzentów czasopism z listy filadelfijskiej gdyż stanowią one przedmiot opublikowanych czterech prac oryginalnych, w których lek med. Agnieszka Janowska jest współautorem.

Uważam zatem, że oceniana rozprawa spełnia warunki określone w art. 13 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki i dlatego wnioskuję o dopuszczenie lek. med. Agnieszki Janowskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Prof. dr hab. n. med. Agnieszka Basta-Kaim

KIEROWNIK STUDIUM DOKTORANCKIEGO  
Instytutu Farmakologii PAN  
*A. Basta-Kaim*  
Prof. dr hab. Agnieszka Basta-Kaim