

Lublin, 19 lipiec 2016 r.

**Ocena
pracy doktorskiej pt.**

„Wpływ wybranych antagonistów receptora AT₁ dla angiotensyny II na aktywność przeciwdrgawkową niektórych klasycznych i nowych leków przeciwpadaczkowych w modelu uogólnionych drgawek toniczno-klonicznych u myszy”

lek. med. Agnieszki Janowskiej

**z Zakładu Badań Czynnościowych Instytutu Medycyny Wsi
im. Witolda Chodźki w Lublinie**

Promotor: prof. dr hab. n. med. Stanisław Jerzy Czuczwar

Od wielu lat w Zakładzie Fizjopatologii Instytutu Medycyny Wsi w Lublinie prowadzone są pod kierunkiem prof. dr hab. n. med. Stanisława Jerzego Czuczvara oryginalne badania doświadczalne dotyczące interakcji pomiędzy lekami przeciwpadaczkowymi a innymi lekami stosowanymi równocześnie m.in. lekami hipotensyjnymi.

Spośród wielu stosowanych obecnie leków w terapii nadciśnienia tętniczego najczęściej zalecane są inhibitory konwertazy angiotensyny oraz antagoniści receptorów AT₁ dla angiotensyny II tzw. sartany. Układ renina-angiotensyna odgrywa przede wszystkim znaczącą rolę w regulacji układu krążenia. Jednak nieliczne prace wskazują również na neuroprotekcyjne działanie antagonistów receptora AT₁ dla angiotensyny II w modelu drgawek doświadczalnych u zwierząt.

Oceniana przeze mnie dysertacja dotyczy tej interesującej tematyki, a podjęte przez lek. med. Agnieszkę Janowską badania są uzasadnione i ważne z naukowego, jak i klinicznego punktu widzenia. Należy podkreślić, że problematyka tych badań została przeprowadzona w ramach grantu finansowanego przez MNiSW, a wyniki opublikowane

w 4 indeksowanych czasopismach, w których Doktorantka jest drugim współautorem.

Przedstawiona do oceny praca liczy 114 stron wydruku komputerowego, w tym 13 rycin, 23 tabele, 225 pozycji starannie dobranego tematycznie i poprawnie cytowanego w tekście piśmiennictwa oraz streszczenie w języku polskim i angielskim. Układ pracy jest typowy.

W obszernym Wstępie (44strony) Autorka, na podstawie aktualnego piśmiennictwa dokonała ogólnej charakterystyki padaczki, klasyfikacji napadów padaczkowych i etiopatogenezy padaczki. Szczegółowo opisała udział układów GABA-ergicznego i glutaminianergicznego w utrzymaniu równowagi układów neuronalnych. Ponadto omówiła rolę kanałów jonowych wapniowych i potasowych w epileptogenezie. Zwróciła też uwagę na neuroprzekaźniki, neuropeptydy oraz inne związki które są odpowiedzialne za powstawanie napadów drgawkowych. Następnie scharakteryzowała eksperymentalne modele drgawek u zwierząt.

W dalszej części Wstępu Doktorantka opisała właściwości, zastosowanie i objawy niepożądane 9 wybranych leków przeciwdrgawkowych tj. fenobarbitalu, fenytoiny, karbamazepiny, oksakarbazepiny, kwasu walproinowego, gabapentyny, tiagabiny topiramatu i lamotryginy. Następnie scharakteryzowała rolę układu renina-angiotensyna-aldosteron w patomechanizmie nadciśnienia tętniczego, udział układu GABA-ergicznego w regulacji krążenia i układu glutaminianergicznego w ośrodkowej regulacji układu krążenia. Omówiła różnorodne działanie angiotensynyII i receptory angiotensynowe. W podrozdziale leczenie nadciśnienia tętniczego Autorka zwróciła szczególną uwagę na antagonistów receptora AT₁ dla angiotensynyII oraz ich właściwości farmakodynamiczne i farmakokinetyczne. Ponadto dokonała charakterystyki losartanu i telmisartanu, które są przedmiotem

tej dysertacji. Opisała ich właściwości, zastosowanie i objawy niepożądane.

Ze Wstępu jasno wynika logicznie sprecyzowane uzasadnienie celu pracy.

Część metodyczna badań behawioralnych i biochemicznych została bardzo dokładnie zaplanowana i szczegółowo opisana. Doświadczenia zostały wykonane na myszach, samcach szczepu Swiss. Doktorantka oceniała wpływ jednorazowego i.p. podania myszom antagonistów receptora AT_1 dla angiotensynyII tj. losartanu oraz telmisartanu na aktywność przeciwdrgawkową 9 wybranych leków przeciwpadaczkowych tj. karbamazepiny, fenobarbitalu, fenytoiny, walproinianu magnezu, oksakarbamazepiny, lamotryginy, topiramatu i gabapentyny w teście maksymalnego wstrząsu elektrycznego (MES).

Na podstawie analizy zależności natężenia prądu – efekt drgawkowy, Autorka obliczyła statystycznie wartości progu drgawkowego CS_{50} dla losartanu i telmisartanu oraz tiagabiny i gabapentyny. Następnie oceniała wpływ w/w antagonistów na aktywność p.drgawkową każdego ze stosowanych leków przeciwpadaczkowych w teście MES, obliczając wartości ED_{50} (z wyjątkiem aktywności tiagabiny i gabapentyny które oceniano w modelu progu drgawkowego dla drgawek indukowanych elektrowstrząsem).

Z kolei w dwóch testach behawioralnych Doktorantka badała wpływ pojedynczych antagonistów receptora AT_1 dla angiotensynyII oraz w kombinacji z poszczególnymi lekami przeciwpadaczkowymi na koordynację ruchową myszy w teście komina oraz pamięć długoterminową gryzoni w teście biernego unikania.

Co więcej, przeprowadziła badania biochemiczne w których oceniała wpływ badanych leków hipotensyjnych na stężenia wolnej frakcji walproinianu magnezu, lamotryginy i topiramatu w surowicy krwi i w

mózgu myszy. Oznaczenia wykonała metodą immunofluorescencyjną przy użyciu analizatora Abbott TD_x oraz przy pomocy wysokociśnieniowej chromatografii cieczowej (HPLC).

Uzyskane wyniki Doktorantka opracowała statystycznie za pomocą właściwie dobranych testów.

W przeprowadzonych badaniach Autorka wykazała, że zarówno losartan jak i telmisartan pozostawały bez wpływu na próg pobudliwości drgawkowej (CS₅₀) u myszy. Losartan (50mg/kg) oraz telmisartan (30mg/kg) zwiększały aktywność p.drgawkową walproinianu magnezu, a pozostawały bez wpływu na działanie karbamazepiny, fenobarbitalu, fenytoiny, oksakarbamazepiny oraz tiagabiny. Co więcej, losartan nasilał p.drgawkowe efekty lamotryginy i gabapentyny ale nie zmieniał aktywności topiramatu. Natomiast telmisartan zwiększał istotnie p.drgawkowe działanie topiramatu w teście MES u myszy.

W testach behawioralnych Doktorantka wykazała, że losartan tylko w dawce 50mg/kg podany w kombinacji z walproinianem magnezu, tiagabiną bądź gabapentyną zaburzał koordynację ruchową myszy w teście komina. Natomiast telmisartan (30mg/kg) zastosowany tylko w skojarzeniu z tiagabiną istotnie zaburzał koordynację ruchową gryzoni. Oba sartany podane pojedynczo bądź w połączeniu z badanymi lekami p.drgawkowymi nie zaburzały pamięci długotrwałej myszy w teście biernego unikania.

Z wykonanych przez Autorkę oznaczeń biochemicznych wynika, że losartan (50mg/kg) zwiększał stężenie tylko walproinianu magnezu i tylko w surowicy krwi myszy. Natomiast telmisartan (30mg/kg) zwiększał stężenie topiramatu zarówno w surowicy jak też mózgu zwierząt.

Piątą część dysertacji stanowi Omówienie wyników w której Doktorantka wnikliwie omówiła uzyskane wyniki i starała się wyjaśnić zachodzące interakcje pomiędzy antagonistami receptora AT₁ dla angiotensyny II a wybranymi lekami przeciwpadaczkowymi. Umiejętnie korzystała z dostępnego piśmiennictwa, co świadczy o Jej dużej dojrzałości badawczej. Konsekwencją starannego omówienia wyników jest 9 logicznych wniosków, moim zdaniem pierwszy jest jednak gramatycznie niefortunny. Dyskusyjny może być wniosek piąty „ telmisartan wzmacnia aktywność przeciwdrgawkową topiramatu jednocześnie zwiększając jego stężenie w surowicy krwi i w mózgu myszy „ w którym należałoby dopisać - „może to wynikać z interakcji farmakokinetycznej „

Uwagę moją zwracają również niektóre , niezręczne sformułowania Gramatyczne np. obydwaj leki....podani ...nasilali efekt przeciwdrgawkowynie nasilali....zaburzyli...nie wpływali ...itp.

Nie mogę też pominąć rozbieżności w wyjaśnianiu skrótu VPA w Tab.16,17,18 i 19 raz jest to walproinian magnezu innym razem kwas walproinowy. Odwrotną kolejność zaobserwowałam w większości tabel gdzie Autorka w grupach skojarzonego stosowania podaje jako pierwszy lek przeciwpadaczkowy (wyjątek fenytoina) a drugi antagonistę receptora AT₁ dla angiotensyny II. Nie jest to zgodne z tytułami poszczególnych tabel ani też z czasem podawania antagonistów tj.120 min. przed testem .

Powyższe uwagi nie wpływają na moją **bardzo dobrą** ocenę pracy, która jest poważnym dorobkiem naukowym lek. med. Agnieszki Janowskiej. Dysertacja poza aspektem poznawczym ma też istotne wartości aplikacyjne bowiem poszerza dotychczasową wiedzę

o neuroprotekcijnej roli antagonistów receptora AT_1 w regulacji aktywności drgawkowej.

Z pełnym przekonaniem stwierdzam, że praca lek.med. Agnieszki Janowskiej spełnia wszystkie wymagania stawiane rozprawom na stopień doktora zawarte w „Ustawie o stopniach i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki”. W związku z tym zwracam się do Wysokiej Rady Naukowej Instytutu Medycyny Wsi im. Witolda Chodźki w Lublinie o dopuszczenie lek. med. Agnieszki Janowskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Wojtowa Ewa
Prof.dr hab. Ewa Jagiełło-Wójtowicz