



UNIwersytet Medyczny

IM. PIASTÓW ŚLĄSKICH WE WROCLAWIU

Katedra i Zakład Farmakologii Klinicznej

Prof. dr hab. Anna Wiela-Hojeńska

Recenzja

**rozprawy doktorskiej Pani mgr inż. Renaty Pukło
pt. „Znaczenie receptorów glutaminianergicznych NMDA w regulacji cytochromu
P450 w wątrobie”**

**wykonanej pod kierunkiem
Promotora Pani prof. dr hab. Władysławy Anny Daniel**

**w Zakładzie Farmakokinetyki i Metabolizmu Leków
Instytutu Farmakologii im. Jerzego Maja Polskiej Akademii Nauk**

Rozprawa doktorska powstała w trakcie realizacji studiów doktoranckich w Krakowskiej Interdyscyplinarnej Szkole Doktorskiej (KISD).

Ocena wyboru tematyki badań

Przedłożona do oceny rozprawa na stopień doktora w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu, w dyscyplinie nauki farmaceutyczne, dotyczy istotnych, o wysokim znaczeniu poznawczym i potencjalnie aplikacyjnym, zagadnień, a wybór tematu badawczego – w kontekście zwiększającej się liczby zachorowań na choroby psychiatryczne i neurologiczne, stałego wzrostu stosowanych leków oraz ich działań niepożądanych, w tym interakcji – uważam za niezwykle ważny z punktu widzenia nauk farmaceutycznych oraz w pełni uzasadniony.

Obserwacje Doktorantki mają szczególne znaczenie, ponieważ dotyczą jednego z podstawowych układów neuroprzekaźnikowych mózgu – układu glutaminianergicznego, który, pozostając w równowadze z układem GABA-ergicznym, odgrywa kluczową rolę w utrzymaniu homeostazy ośrodkowego układu nerwowego. W dostępnym piśmiennictwie szczególnie wiele uwagi poświęcono receptorowi NMDA – receptorowi jonotropowemu, którego nazwa pochodzi od związku będącego jego selektywnym agonistą, kwasu N-metylo-D-asparaginowego. Kompleks receptora NMDA obejmuje liczne miejsca wiążące ligandy, co umożliwia powstawanie agonistów, antagonistów i modulatorów tych miejsc,

uczestniczących w regulacji otwierania kanału jonowego i stanowiących istotne punkty uchwytu dla leków.

Badania nad nowymi lekami często koncentrują się na poszukiwaniu związków pobudzających bądź hamujących receptory glutaminianergiczne, odgrywające zasadniczą rolę w przekaźnictwie synaptycznym, rozwoju układu nerwowego, procesach adaptacyjnych i neuroplastyczności mózgu, a także w regulacji funkcji poznawczych, powstawaniu lęku i przewodzeniu czucia bólu. Wzmoczona aktywacja układu glutaminianergicznego odpowiada za postępujące uszkodzenie komórek nerwowych i rozwój m.in. depresji, schizofrenii, choroby Alzheimera oraz choroby Parkinsona, w których terapii zastosowanie znalazły leki należące do antagonistów receptora NMDA. Połączenie działania neurotoksycznego nadmiernej stymulacji receptorów glutaminianergicznych ze zmniejszonym wpływem czynników troficznych ma istotne znaczenie w procesach neurodegeneracyjnych.

Powyższe zależności są obecnie dobrze udokumentowane w literaturze, natomiast Doktorantka podjęła się kontynuacji trudnego i nowatorskiego zadania zainicjowanego przez Zespół kierowany przez Panią Prof. dr hab. Władysławę Annę Daniel – wykazania wpływu układu glutaminianergicznego mózgu na neuroendokrynną regulację ekspresji i aktywności cytochromu P450 w wątrobie, ze szczególnym uwzględnieniem identyfikacji struktur mózgowych oraz hormonów pośredniczących w tym procesie. Uzyskane dotychczas dane wskazują, że glutaminianergiczne receptory NMDA, poprzez oddziaływanie na oś podwzgórze–przysadka–narząd efektorowy, mogą modulować ekspresję izoform cytochromu P450 w wątrobie, co ma istotne implikacje zarówno dla farmakoterapii, jak i dla przewidywania interakcji lek–lek. W tym kontekście zakres badań podjętych w rozprawie doktorskiej należy ocenić jako ambitny, oryginalny i ważny z punktu widzenia współczesnej neurofarmakologii oraz farmakokinetyki klinicznej.

Ocena strony formalnej

Rozprawa Pani mgr Renaty Pukło ma typowy układ monografii doktorskiej. Liczy 144 strony, składa się z następujących rozdziałów: Wstęp, Cel i zakres pracy, Materiały i metody, Wyniki, Dyskusja, Wnioski, Streszczenie w języku polskim i angielskim, Literatura. Dodatkowo na początku monografii został zamieszczony wykaz stosowanych skrótów. Ponadto uzupełniają ją 36 ryciny oraz 5 tabel.

Struktura pracy jest przejrzysta, a numeracja rozdziałów i podrozdziałów konsekwentna oraz zgodna z przyjętymi w pracach naukowych standardami. Jedyna uwaga dotyczy błędnego oznaczenia rozdziału «Wyniki» numerem rzymskim V zamiast IV, co pociąga za sobą dalszą niewłaściwą numerację kolejnych rozdziałów.

Spis 238 pozycji piśmiennictwa został przedstawiony w układzie alfabetycznym według nazwisk pierwszych autorów. Jego redakcja jest jednolita, bez błędów formalnych, a pozycje opisano zgodnie z normami bibliograficznymi. Wykorzystano literaturę polską i zagraniczną, obejmującą prace, które ukazały się w latach 1962-2025, co świadczy o dobrym opanowaniu stanu badań.

Podsumowując ocenę strony formalnej pracy, stwierdzam, że układ przedłożonej rozprawy doktorskiej jest przejrzysty i nie budzi zastrzeżeń co do przyjętej przez Doktorantkę struktury prezentacji treści, poprawności języka polskiego oraz formy edytorskiej.

Ocena merytoryczna

Rozprawa doktorska została przygotowana z dbałością o stronę merytoryczną. Rozdział I «Wstęp» zawiera cenne odniesienia do aktualnego stanu wiedzy w danym zakresie, potwierdzając nie tylko dużą wiedzę Doktorantki, ale także jej zaangażowanie w tematykę naukowo-badawczą realizowanej pracy. Kandydatka, opierając się na przeglądzie piśmiennictwa, trafnie uzasadniła wybór tematu obserwacji. Pani mgr Renata Pukło nie tylko scharakteryzowała cytochrom P450, opisała jego fizjologiczną regulację w wątrobie – na poziomie molekularnym, obwodowym, odniosła się do neuroendokrynnej regulacji na poziomie mózgu, ale także przedstawiła układ glutaminianergiczny z jego sygnalizacją w mózgu i na obwodzie, oraz z jej znaczeniem w patofizjologii zaburzeń neuropsychiatrycznych. Doktorantka uwzględniła także – co zasługuje na wyróżnienie – różnice pomiędzy człowiekiem a szczurem w zakresie enzymów cytochromu P450, podkreślając, że w procedurach wymagających zabiegów chirurgicznych zwierzęta te są często modelem z wyboru. Tekst wstępu został wzbogacony dwoma tabelami i trzema rycinami, co miało na celu ułatwienie przekazu i przyswojenie informacji.

Cel badań nie został wystarczająco sprecyzowany i przejrzystość przedstawiony. Ukryty jest w treści rozbudowanego rozdziału II «Cel i zakres pracy». Uważam, że niektóre informacje tam zawarte, w tym rycina 5, mogłyby stanowić podrozdział rozdziału III «Materiały i metody».

Mocną stroną badań przedstawionych w rozprawie doktorskiej jest wykonanie bardzo szerokiego zakresu różnych analiz z zastosowaniem wielu technik badawczych, w tym także zaawansowanych. Jestem pod wrażeniem umiejętności Pani mgr Renaty Pukło w posługiwaniu się różnorodnym skomplikowanym warsztatem naukowo-badawczym. Właściwy dobór zarówno metodologii, jak i narzędzi badawczych pozwolił Doktorantce na prawidłowe zrealizowanie celów naukowych zgodnie z przyjętymi założeniami.

Uzyskane wyniki umożliwiły sformułowanie dziesięciu wniosków podsumowujących, które pozostają w ścisłym związku z przyjętymi celami i hipotezami badawczymi. Wnioski są logicznie wyprowadzone z danych empirycznych, zwarte i wolne od nadmiernej spekulacji, choć niektóre są obserwacjami.

W dyskusji Kandydatka odniosła wyniki swoich badań do wiedzy literaturowej, w tym zarówno wcześniejszych obserwacji macierzystego zespołu, jak i prac innych grup badawczych. Pomocne dla całościowego oglądu znaczenia poszczególnych wyników pracy są dwie tabele podsumowujące obserwacje uzyskane po 5-dniowym podawaniu związku CP-101,606 – odpowiednio do komórek bocznych mózgu – na ekspresję i aktywność enzymów cytochromu P450 w wątrobie oraz na wydzielanie hormonów, w porównaniu z 5-dniowym podaniem dootrzewnowym, a także do jąder przykomorowych lub łukowatych podwzgórza. Ponadto rycina własna przedstawia schemat proponowanego mechanizmu wpływu blokady podjednostki GluN2B receptora NMDA na neuroendokrynną regulację wątrobowego cytochromu P450 u szczura. W końcowej części dyskusji Pani mgr Renata Pukło zasygnalizowała ograniczenia obserwacji oraz przedstawiła plany dotyczące dalszych badań, co pokazuje, że Doktorantka potrafi krytycznie skonfrontować się ze swoimi wynikami.

Na uwagę zasługuje fakt sfinansowania prac badawczych w ramach Grantu OPUS 12 (nr 2016/23/B/NZ7/02283) pozyskanego przez Panią Promotor a przyznanego przez Narodowe Centrum Nauki, co również świadczy o ich znaczeniu naukowym.

Podsumowanie

Wyniki uzyskane przez Panią mgr inż. Renatę Pukło w toku realizacji badań wchodzących w skład osiągnięcia naukowego noszącego tytuł „Znaczenie receptorów glutaminianergicznych NMDA w regulacji cytochromu P450 w wątrobie” są wartościowe merytorycznie, posiadają duże znaczenie dla reprezentowanego przez Doktorantkę obszaru nauk i stanowią rozwiązanie oryginalnego problemu badawczego. Pani mgr Renata Pukło

wykazała się umiejętnością stawiania hipotezy badawczej, formułowania celu badań, konsekwencją realizacji oraz wyciągania właściwych wniosków. Na podkreślenie zasługuje opanowanie interesującego warsztatu badawczego oraz skrupulatność w realizacji poszczególnych etapów badań.

Podsumowując uważam, że przedłożona do recenzji rozprawa doktorska, której autorką jest Pani mgr inż. Renata Pukło spełnia w pełni wymagania stawiane rozprawom doktorskim określonym w art. 187 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (t.j. Dz.U.2024, poz.1571 z późn. zm.). W związku z powyższym zwracam się do Rady Naukowej Instytutu Farmakologii im. Jerzego Maja Polskiej Akademii Nauk o przyjęcie i dopuszczenie Pani mgr inż. Renaty Pukło do dalszych etapów postępowania w sprawie nadania stopnia doktora w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu, dyscyplinie nauki farmaceutyczne.

Mając na uwadze istotną wartość poznawczą uzyskanych wyników, jak również ich opublikowanie w renomowanych czasopismach naukowych (*International Journal of Molecular Sciences*, IF = 4,9 oraz *Drug Metabolism and Disposition*, IF = 4,0) z pierwszym autorstwem Doktorantki, wnioskuję o wyróżnienie rozprawy.

Wrocław, 19.01.2026 r.

Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu
KATEDRA I ZAKŁAD
FARMAKOLOGII KLINICZNEJ
kierownik
prof. dr hab. Anna Wiera-Flora-Flora