



**WARSZAWSKI
UNIwersYTET
MEDYCZNY**

KATEDRA I ZAKŁAD FARMAKOLOGII DOŚWIADCZALNEJ I KLINICZNEJ

Dr hab. n. med. Justyna Pyrzanowska

Warszawa, 24 lutego 2026 r.

Adiunkt

Katedra i Zakład Farmakologii
Doświadczalnej i Klinicznej

Warszawski Uniwersytet Medyczny

Ocena rozprawy mgr inż. Magdaleny Czarnej

**p.t. „Długotrwałe adaptacje neurochemiczne po wielokrotnej ekspozycji
na amfetaminę – zmiany w układach monoaminergicznym i glutaminianergicznym
oraz rola modulacyjna kwasu kynureninowego i tauryny”**

**na stopień doktora w dyscyplinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu
w dyscyplinie nauki medyczne**

**wykonanej pod kierunkiem dr hab. n. med. Ewy Tarachy, prof. IPiN
w Zakładzie Neuronauki Doświadczalnej i Klinicznej
Instytutu Psychiatrii i Neurologii w Warszawie.**

Przedstawiona do recenzji praca doktorska zawiera wyniki badań dotyczących długotrwałych neurochemicznych efektów adaptacyjnych po wielokrotnej ekspozycji na amfetaminę. Doktorantka oceniła zmiany w układach monoaminergicznym i glutaminergicznym oraz rolę modulacyjną kwasu kynureninowego i tauryny. Oceniana dysertacja jest zwartą monografią przedstawioną w języku polskim. Ma typowy układ i jest podzielona na część teoretyczną obejmującą wykaz skrótów, wykaz tabel i rycin,

wprowadzenie, założenia i cele pracy, a także na część praktyczną zawierającą omówienie materiałów i metod badań zastosowanych w pracy oraz wyniki i dyskusję zakończoną podsumowaniem i wnioskami. Na końcu zamieszczone zostały krótkie streszczenia w języku polskim i angielskim oraz spis piśmiennictwa. Dobór i kolejność rozdziałów oraz bibliografia nie budzą zastrzeżeń. Całość liczy 160 stron oprawionego druku komputerowego formatu A4, obejmuje 2 tabele, 23 ryciny oraz 358 pozycji piśmiennictwa z lat 1887 (z pierwszym opisem syntezy amfetaminy L. Edeleanu) - 2025. Praca jest spójna tematycznie i została napisana poprawnym językiem naukowym oraz starannie zredagowana. Badania zawarte w rozprawie były współfinansowane przez Narodowe Centrum Nauki w ramach projektu Opus 10 pt. „Ocena przydatności sensytyzacji odpowiedzi wokalizacji ultradźwiękowej (FM 50 kHz USV) na amfetaminę jako predyktora podatności na uzależnienia od tej substancji oraz poszukiwanie neurobiologicznego podłoża zróżnicowanej podatności”, nr UMO-2015/19/B/NZ7/03610, oraz ze środków statutowych IPiN, nr 501-40-003-18017-01. Wyniki badań zostały opublikowane w czasopismach o uznanej renomie z pierwszym i drugim autorstwem Doktorantki (Behavioural Brain Research, 2020; Pharmacological Reports, 2023; Psychopharmacology (Berl), 2024 – pozycje w piśmiennictwie pracy doktorskiej 226-228).

Problem badawczy

W pracy podjęto istotny temat opisu neurochemicznych mechanizmów adaptacyjnych w odpowiedzi na wielokrotne podanie amfetaminy, ze szczególnym uwzględnieniem roli układów monoaminergicznych i glutaminianergicznego oraz roli modulacyjnej kwasu kynureninowego i tauryny.

Amfetamina zaliczana jest do grupy leków psychotropowych z grupy II-P (o dużym potencjale nadużywania, dopuszczonych do celów medycznych pod ścisłą kontrolą), o działaniu psychostymulującym. Należy do amin sympatykomimetycznych o działaniu pośrednim, zwiększa uwalnianie neuroprzekaźników dopaminy, noradrenaliny i serotoniny w szczelinach synaptycznych poprzez blokadę ich wychwyty zwrotnego i nasilenie uwalniania. Amfetamina hamuje transport zwrotny monoamin poprzez wpływ na ich transportery (DAT, NET, SERT), blokuje magazynowanie

neuroprzekaźników w pęcherzykach synaptycznych poprzez inhibicję VMAT2, co zwiększa ich dostępność w cytoplazmie komórki nerwowej, a także ma wpływ hamujący na monoooksydazy MAO spowalniając rozkład dopaminy i noradrenaliny. Wielokrotne podawanie amfetaminy jest procesem prowadzącym do głębokich i często trwałych adaptacji neuroplastycznych. W piśmiennictwie opisano mechanizmy obejmujące downregulację receptorów (głównie D2) oraz transporterów dopaminy (DAT), czego efektem jest tolerancja farmakologiczna. Pojawić może się sensytyzacja (behawioralna i motoryczna) pod postacią stereotypii ruchowych oraz zwiększonej podatności na paranoję i psychozy przy kolejnych ekspozycjach na substancję. Przewlekła stymulacja ma wpływ na układ nagrody i skutkuje anhedonią związaną ze zmniejszeniem stężenia dopaminy w OUN. Zmiany w korze przedczołowej prowadzą do osłabienia kontroli poznawczej nad impulsami i utrudniają zaprzestanie zażywania amfetaminy, promując zachowania przymusowe i osłabiając zdolność do oceny ryzyka. Jednak do tej pory mechanizmy neurobiologiczne po wielokrotnym podaniu amfetaminy nie zostały w pełni poznane.

Wprowadzenie liczy 50 stron i jest starannie opracowane w przystępny sposób z wykorzystaniem aktualnego piśmiennictwa. Doktorantka dokonuje właściwego wyboru tematyki do wstępu i rozpoczyna od ogólnej charakterystyki amfetaminy. Uwzględnia historię odkrycia tej substancji i jej zastosowanie zarówno w aspekcie przeszłym, jak i współczesnym oraz opisuje regulacje prawne dostępności amfetaminy jako substancji psychoaktywnej. Zwraca uwagę na dane epidemiologiczne jej nadużywania na świecie i w Polsce. W dalszej części wprowadzenia Autorka charakteryzuje mechanizm działania amfetaminy opisując szczegółowo jej neurochemiczne mechanizmy działania, a ponadto fizjologiczne efekty działania amfetaminy na układ sercowo-naczyniowy, metabolizm, funkcje psychiczne i zachowanie, układ mięśniowy i motorykę oraz reakcje wegetatywne i endokrynne. Następnie Doktorantka koncentruje się na długotrwałych skutkach używania amfetaminy – wyjaśnia znane do tej pory skutki zdrowotne pod postacią zmian neurotoksycznych i neuroadaptacyjnych, zaburzeń psychicznych i poznawczych oraz następstw somatycznych i ogólnoustrojowych. Analizuje także ryzyko uzależnienia,

w tym mechanizmy prowadzące do jego rozwoju, zwracając uwagę na zaangażowane struktury mózgu - układ nagrody (którego kluczowym elementem jest mezolimbiczny szlak dopaminergiczny) i korę przedczołową, a także na rolę układu glutaminianergicznego. Opisuje zmiany neuroplastyczne związane z uzależnieniem w obrębie jąder podstawy i korze przedczołowej, zwracając uwagę m. in. na rolę białka delta FosB jako markera przewlekłej ekspozycji na psychostymulanty, białka wiążącego element odpowiedzi na cAMP (CREB) w regulacji endogennego układu opiodowego i wydzielania CRF czy białek pośredniczących w przekazywaniu sygnałów synaptycznych zależnych od receptorów dopaminowych i glutaminianowych, co składa się na obraz głębokich zmian molekularnych i strukturalnych. Autorka ponadto przypomina o wpływie czynników psychologicznych i środowiskowych na ryzyko uzależnienia. W dalszej części wprowadzenia Doktorantka opisuje modele eksperymentalne stosowane w badaniach nad amfetaminą, w tym model samopodawania leku, warunkowaną preferencję miejsca (CPP – Conditioned Place Preference), sensytyzację behawioralną (z opisem protokołu TIPS, Two-injection Protocol of Sensitization) oraz procedury modelujące zjawisko abstynencji i nawrotów. Szczególną uwagę Autorka zwraca na zastosowanie metod z użyciem wokalizacji ultradźwiękowych. Ponadto analizuje ograniczenia i wyzwania w stosowaniu modeli zwierzęcych. Można wspomnieć, że nie wszystkie skróty umieszczone we wprowadzeniu zostały rozwinięte i uwzględnione w wykazie skrótów.

Założenia, główny cel i cele szczegółowe pracy są sformułowane poprawnie, spójne merytorycznie, aktualne i dobrze osadzone w neurobiologii uzależnień.

Uzależnienie od substancji psychoaktywnych jest wynikiem złożonych procesów neuroadaptacyjnych, w których kluczową rolę odgrywa plastyczność neuronalna wywołana przewlekłą ekspozycją na psychostymulanty, takie jak amfetamina. Długotrwałe przyjmowanie substancji prowadzi do głębokiej przebudowy funkcjonalnej układów neuroprzekaźnikowych, obejmującej nie tylko system dopaminergiczny odpowiedzialny za nagrodę i motywację, lecz także układ serotoninergericzny, glutaminianergiczny oraz neuromodulatory, takie jak kwas kynureninowy i tauryna. Istotne znaczenie mają zmiany zachodzące w okresie abstynencji, ponieważ to

utrwalone, długotrwałe modyfikacje w funkcjonowaniu sieci neuronalnych – a nie jedynie bezpośrednie działanie narkotyku – mogą odpowiadać za utrzymanie patologicznych wzorców zachowania i zwiększoną podatność na nawroty nawet po długim czasie od zaprzestania używania substancji. Zgodnie z założeniami Doktorantka zaplanowała charakterystykę trwałych zmian neurochemicznych w mózgu, wywołanych wielokrotną ekspozycją na amfetaminę. Przedstawiła hipotezy badawcze obejmujące wpływ podawania amfetaminy na zmiany w neuroprzekątnictwie podczas i po zaprzestaniu podawania substancji, dotyczące układów monoaminergicznych i glutaminianergicznego oraz przekształceń neuromodulatorów odpowiedzialnych za utrzymanie hemostazy neuronalnej jak kwas kynureninowy i tauryna. Słuszność założeń Autorka sprawdzała badając:

1. zachowanie zwierząt eksperymentalnych – wokalizacje jako wskaźnik działania nagradzającego w odpowiedzi na podanie amfetaminy oraz kontekst warunkowany jej podaniem oraz rozwój sensytyzacji i/lub tolerancji tych reakcji jako wskaźnik adaptacji neuroplastycznych;
2. zmiany w zewnątrzkomórkowych stężeniach neuroprzekątnika dopaminy i jej metabolitów w prążkowie grzbietowym (caudate-putamen, CPu) na różnych etapach protokołu podawania amfetaminy, w tym w okresie abstynencji;
3. długotrwałe zmiany w tkankowych stężeniach neuroprzekątników dopaminy, serotoniny i glutaminanu oraz neuromodulatorów kwasu kynureninowego i tauryny w wybranych strukturach mózgu: bocznej części prążkowie grzbietowego (lateral caudate-putamen, CPuL), korze czołowej (frontal cortex, Cx) i jądrze pólężącym (nucleus accumbens, Acb).

Praca ma wysokie znaczenie poznawcze i translacyjne, ponieważ łączy kompleksową analizę neurochemiczną (technika mikrodializy oraz badanie poziomów tkankowych neuroprzekątników) z oceną zachowań emocjonalnych, co pozwala uchwycić zależność między zmianami molekularnymi a funkcjonalnymi konsekwencjami przewlekłej ekspozycji na amfetaminę i okresu abstynencji. Jej wartością jest integracyjne ujęcie kilku kluczowych układów – dopaminergicznego, serotonergicznego oraz glutaminianergicznego – wraz z neuromodulatorami, takimi jak kynureninian i tauryna, co wykracza poza tradycyjne, dopaminocentryczne modele uzależnienia. Takie podejście

wzmacnia rozumienie mechanizmów utrwalania zachowań nałogowych i podatności na nawroty, wskazując, że kluczowe znaczenie mają długotrwałe zaburzenia równowagi między układami pobudzającymi i hamującymi. Wyniki mogą więc stanowić solidną podstawę do udoskonalenia modeli przedklinicznych oraz projektowania terapii ukierunkowanych na przywracanie homeostazy neuroprzebieżnikowej, co nadaje pracy istotny potencjał aplikacyjny w badaniach nad leczeniem uzależnień.

Część doświadczalna

Materiał i metody użyte w pracy są wybrane prawidłowo. Wszystkie procedury eksperymentalne wykonane na zwierzętach w tej pracy uzyskały pozytywną opinię II Lokalnej Komisji Do Spraw Doświadczeń na Zwierzętach przy SGGW w Warszawie (nr uchwały WAW2/042/2018 oraz WAW2/078/2020). Zaplanowane cele Doktorantka realizowała w 2. eksperymentach oceniając grupy badane dorosłych samców szczurów Sprague-Dawley otrzymujące siarczan d-amfetaminy w dawce 1.5mg/kg w 0.9%NaCl (roztwór 1.5mg/ml, dootrzewnowo) i grupy kontrolne otrzymujące roztwór soli fizjologicznej i.p. Plan doświadczeń zasadniczo nie budzi zastrzeżeń, jednakże Doktorantka zadeklarowała w 1. eksperymencie przeprowadzenie badań na 10 szczurach bez dokładnego opisu grup zwierząt w nim uczestniczących. Algorytm procedur obejmował podanie amfetaminy w dawce 1.5mg/kgmc i.p. i wykonanie mikrodializy wraz z rejestracją USV w 4. punktach czasowych. Nie jest jasne czy utworzono grupę kontrolną, oprócz grupy otrzymującej amfetaminę. W podpisie Ryc.3 wspomniano o grupie kontrolnej („sham?”) otrzymującej NaCl (sól fizjologiczną?) o nieznanym liczebności, ale nie została ona opisana w akapicie poświęconym schematowi eksperymentalnemu. Brak takiej grupy sugerują również wyniki eksperymentu 1., w których nie uwzględniono porównania z grupą kontrolną. Ponadto z danych statystycznych wynika, że analizowano wyniki pochodzące od 7 zwierząt, co zgadza się z oświadczeniem o wycofaniu 3 zwierząt z grupy o wstępnej zadeklarowanej liczebności n=10 (wystarczającej dla pojedynczej grupy eksperymentalnej). W badaniach nad dopaminą metodą mikrodializy grupa kontrolna stanowi kluczowy punkt odniesienia dla właściwej interpretacji wyników. Choć stężenie neuroprzebieżnika można

odnosić do średniej z próbek zebranych przed podaniem leku, analiza stabilności linii bazowej przed interwencją jest dopuszczalna jako forma autokontroli jedynie w badaniach pilotażowych. Zgodnie ze standardami ARRIVE 2.0, stały poziom zewnątrzkomórkowy dopaminy przed podaniem leku nie stanowi wystarczającej alternatywy dla niezależnej grupy kontrolnej. Wykorzystanie grupy otrzymującej roztwór soli fizjologicznej pozwala na odróżnienie farmakologicznego efektu amfetaminy od nieswoistych reakcji fizjologicznych, takich jak stres czy odpowiedź na bodźce zewnętrzne. Jest to szczególnie istotne w obliczu naturalnych fluktuacji stężenia dopaminy oraz ryzyka wystąpienia artefaktów wynikających z postępującego uszkodzenia tkanki wokół sondy lub wyczerpania puli pęcherzykowej. Ponadto, ze względu na wysoką labilność dopaminy, grupa kontrolna służy jako wewnętrzny standard jakości, umożliwiający bieżącą weryfikację wydajności odzysku oraz sprawności analitycznej układu HPLC.

Metody statystyczne wykorzystane w pracy są dobrane i opisane prawidłowo.

Wyniki opisane w pracy doktorskiej zajmują 20 stron i są przedstawione w sposób przejrzysty i uporządkowany. Niemniej pewne zastrzeżenia budzi fakt braku jasnej deklaracji liczby n zwierząt, którą ostatecznie uwzględniano w analizie statystycznej poszczególnych badanych parametrów. Ponadto podawanie wartości p przy testach post-hoc umożliwiłoby czytającemu pełniejszą interpretację wyników eksperymentu.

Ryciny, które Doktorantka zamieściła w pracy są duże, czytelne, prawidłowo opisane i w wystarczającej liczbie.

Dyskusja zajmuje 36 stron. Doktorantka sprawnie zestawia wyniki swoich badań z dostępnym, aktualnym piśmiennictwem. W osobnym podrozdziale dokonuje podsumowania. Cennym uzupełnieniem byłoby dodanie osobnego akapitu poświęconego ograniczeniom wykonanych doświadczeń.

Wnioski końcowe (w liczbie 6) są logiczne i pozostają w zgodzie z przeprowadzonymi eksperymentami. Badania przeprowadzone przez Doktorantkę w pełni potwierdzają hipotezę, że wielokrotna ekspozycja na amfetaminę prowadzi do trwałych zmian neurobiologicznych oraz modyfikacji mechanizmów nagradzania. Obserwowane zmiany obejmowały zarówno układ dopaminergiczny, wykazujący osłabienie wyrzutu dopaminy i obniżenie DOPAC w prążkowie grzbietowym, jak i układ serotoninergericzny,

charakteryzujący się utrzymującym się spadkiem stężeń serotoniny i 5-HIAA po 28 dniach abstinencji. Ponadto wykazano dysregulację szlaku glutaminianergicznego i neuromodulatorów ochronnych, takich jak kwas kynureninowy i tauryna. Analizy korelacyjne ujawniły przejściowe dodatnie powiązania dopaminy i serotoniny po 14 dniach abstinencji oraz zaburzenia szlaku kynureninowego (spadek kynureninianu i zanik korelacji dopamina – kwas kynureninowy). Dodatkowo w późnej fazie abstinencji obserwowano wzrost stężenia glutaminianu w korze czołowej i bocznej części prążkowiego grzbietowego wraz ze spadkiem stężenia kwasu kynureninowego oraz podwyższenie stężenia tauryny w bocznej części prążkowiego grzbietowego, co świadczy o narastającej dysregulacji glutaminianergicznej i ograniczonej skuteczności mechanizmów ochronnych. Zmiany w emisji 50-kHz FM USV wskazują na modyfikację reakcji nagradzającej obejmującą początkową sensytyzację, tolerancję przy kolejnych podaniach oraz ponowne nasilenie po okresie abstinencji. Łącznie wyniki te potwierdzają, że przewlekła ekspozycja na amfetaminę prowadzi do złożonych, trwałych neuroadaptacji, które utrzymują się po eliminacji substancji i mogą zwiększać podatność na nawroty zachowań związanych z jej przyjmowaniem.

Podsumowując, rozprawę doktorską Pani magister inżynier Magdaleny Czarnej, pomimo niewielkich zastrzeżeń, oceniam pozytywnie. Temat pracy jest interesujący, aktualny i wnosi istotny wkład w zrozumienie neurobiologii uzależnień. Część teoretyczna i praktyczna została przemyślana i zaprojektowana prawidłowo. Wyniki przedstawione zostały klarownie i następnie krytycznie omówione w dyskusji w kontekście światowego piśmiennictwa. Rozprawa doktorska dostarcza nowych i istotnych danych w zakresie neurochemii i farmakologii stanowiąc zarazem punkt wyjścia do planowania kolejnych prac.

Konkluzja recenzji

Stwierdzam, że rozprawa doktorska Pani mgr. inż. Magdaleny Czarnej zatytułowana „Długotrwałe adaptacje neurochemiczne po wielokrotnej ekspozycji na amfetaminę – zmiany w układach monoaminergicznych i glutaminianergicznym oraz rola modulacyjna kwasu kynureninowego i tauryny”, stanowiąca indywidualny dorobek naukowy Doktorantki, w pełni odpowiada wymaganiom stawianym pracom doktorskim

i spełnia warunki określone w Ustawie z dn. 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2024 r., poz. 1571 z późniejszymi zmianami). Wskazuje ona na ogólną wiedzę Doktorantki w uprawianej dyscyplinie nauk medycznych i umiejętności samodzielnego prowadzenia badań naukowych.

W związku z powyższym zwracam się do Rady Naukowej Instytutu Psychiatrii i Neurologii w Warszawie z wnioskiem o dopuszczenie Pani mgr inż. Magdaleny Czarnej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Dr hab. n. med. Justyna Pyrzanowska

