

dr hab. n. med. Maria Radziwoń - Zaleska

Katedra i Klinika Psychiatryczna

Warszawski Uniwersytet Medyczny

00 – 665 Warszawa

ul. Nowowiejska 27

**Recenzja rozprawy doktorskiej mgr Anny Rafało-Ulińskiej pt:
Zmiany w poziomie ekspresji genów oraz białek transporterów cynkowych
w depresji**

Promotor: prof. Gabriel Nowak

Promotor pomocniczy: dr hab. Bernadeta Szewczyk

Według najnowszych danych Światowej Organizacji Zdrowia depresja dotyka ponad 300 milionów ludzi na całym świecie. Prognozuje się, że w 2030 roku zaburzenia depresyjne nawracające osiągną pierwsze miejsce wśród chorób ryzyka przedwczesnej śmierci oraz utraty możliwości zarobkowania. Mimo wieloletnich badań etiopatogeneza depresji nadal nie została do końca poznana. Badania na zwierzętach oraz badania kliniczne, coraz częściej wskazują na udział kompleksu receptora NMDA (N-metylo-D-asparaginowego) oraz związanej z nim pobudzającej neurotransmisji aminokwasowej, zarówno w patofizjologii jak i terapii depresji. Potwierdzeniem dla tej koncepcji są nieprawidłowości w układzie glutaminergicznym występujące w krwi, płynie mózgowo-rdzeniowym oraz tkance mózgowej osób z zaburzeniami depresyjnymi. Obecnie uważa się, że modyfikacja przekaźnictwa glutaminergicznego poprzez oddziaływanie na receptor NMDA jest obiecującym celem farmakoterapii przeciwdepresyjnej. W ostatnich latach powstała nowa hipoteza, która próbuje wyjaśnić mechanizm patogenezy depresji tzw. hipoteza zaburzenia homeostazy cynku. Wiele badań klinicznych jak i przedklinicznych wskazuje jednoznacznie, że niedobór cynku

w diecie jest czynnikiem ryzyka wystąpienia depresji. Ponadto, rosnąca liczba doniesień klinicznych sugeruje, że obniżone stężenie cynku w surowicy może stanowić marker zaburzeń depresyjnych. Istnieją również badania, które wskazują na pozytywne działanie suplementacji cynkiem na zwiększenie efektywności działania leków przeciwdepresyjnych.

Dzięki badaniom przeprowadzonym na zwierzętach wykazano, że poprzez modulację układu glutaminergicznego cynk może wykazywać działanie przeciwdepresyjne. Dane zawarte w piśmiennictwie dotyczą badań wykonywanych głównie na zwierzętach, prace kliniczne są nieliczne – dotyczą prób suplementacji terapii LPD jonami cynku i magnezu.

Recenzowana praca ma układ typowy: zawarta jest na 81 stronach. Składa się z 10 rozdziałów (Wstęp, Cel pracy, Materiały i Metody, Wyniki badań oraz Dyskusja i Podsumowanie Wyników, Wnioski, Streszczenie w języku polskim i angielskim oraz Piśmiennictwo). Pracę uzupełnia spis rycin, tabel i skrótów zawartych w tekście.

We wstępie Doktorantka przedstawiła obowiązujące współcześnie koncepcje patogenetyczne depresji, zwraca uwagę doskonałą znajomość metod leczenia depresji oraz stosowanych LPD przez nie-klinicystę. Doktorantka wyszczególniła różne grupy LPD – ale dokładnie opisała tylko Amitryptylinę – lek z grupy TLPD, który z racji poważnych działań niepożądanych aktualnie jest rzadko stosowany w praktyce klinicznej. Nie znalazłam wyjaśnienia, czym podyktowany był taki wybór leku oraz dlaczego była stosowana taka dawka.

Analiza aktualnego piśmiennictwa, dokonana przez Doktorantkę, stanowi wyczerpujące i przejrzyste przedstawienie zagadnień związanych z tematem rozprawy. Dużą zaletę prezentowanego piśmiennictwa stanowi dokładny opis roli cynku w patofizjologii i terapii depresji.

Celem prezentowanej pracy była ocena ekspresji genów i białek transporterów cynkowych w zaburzeniach depresyjnych przez:

1. Zbadanie wpływu usunięcia opuszek węchowych i chronicznych podań amitryptyliny na poziom ekspresji mRNA oraz białka ZnT w mózgu szczurów
2. Zbadanie wpływu diety niskocynkowej i chronicznych podań amitryptyliny na poziom ekspresji mRNA oraz białka ZnT w mózgu szczurów
3. Określenie poziomu białka ZnT w zaburzeniach afektywnych (u osób ze zdiagnozowaną depresją oraz ofiar samobójstwa - badania *post-mortem*)

Cel pracy został sformułowany jasno, adekwatnie i bardzo szczegółowo.

Materiał zwierzęcy stanowiły samce szczurów. Liczebność każdej z eksperymentalnych grup zawierała się w przedziale od 8 do 10 szczurów.

Wszystkie eksperymenty ze zwierzętami wykonano za zgodą Lokalnej Komisji Etycznej przy IF PAN w Krakowie.

Materiał ludzki stanowiła tkanka mózgowa pobrana pośmiertnie od 10 mężczyzn, u których zdiagnozowano zaburzenie depresyjne (MDD - major depressive disorder), oraz od 10 psychicznie zdrowych osób, które stanowiły grupę kontrolną. Dane zebrano podczas autopsji w Cuyahoga County Medical Examiner's Office, Cleveland, OH. Przyczyny śmierci orzekł lekarz medycyny sądowej. Biuro ds. Przeglądów Instytucjonalnych Szpitala Uniwersyteckiego Case Medical Center oraz Centrum Medyczne Uniwersytetu Missisipi zatwierdziły protokół rekrutacji, pobierania tkanek i wywiadów z najbliższymi krewnymi.

Tkanka mózgowa została pobrana pośmiertnie od 11 niezdiagnozowanych ofiar samobójstw i 8 osób, w przypadku których śmierć nie wynikała z samobójstwa. Tkanka została pozyskana w czasie sekcji zwłok na Wydziale Medycyny Sądowej Uniwersytetu Jagiellońskiego Collegium Medicum (Grant nr 6P05B 142 Państwowego Komitetu Badań Naukowych, zatwierdzony przez Komisję Etyki).

W pracy przedstawiono bardzo szczegółowy opis zastosowanych narzędzi badawczych oznaczających ekspresję genów oraz poziomu białka w modelach zwierzęcych oraz oznaczanie poziomu białka w tkankach ludzkich.

Do sprawdzenia różnic statystycznych zastosowano jednoczynnikową analizę wariancji (One-way ANOVA) oraz dwuczynnikową analizę wariancji (Two - way ANOVA) z wykorzystaniem testu Bonferroniego i Tukeya lub przy użyciu testu t-Studenta. Wszystkie analizy zostały wykonane w programie Prism5, GraphPad.

Metody statystyczne zastosowane w pracy są bardzo rzetelne, z uwzględnieniem rodzaju analizowanych danych.

Metodykę badań oraz wyniki pracy zaprezentowano w niezwykle jasno przedstawionych 20 rycinach i 6 tabelach, ułatwiających ich analizę.

Umieszczona w pracy tabela nr 6 – podsumowująca uzyskane wyniki jest dość niejasna – dla łatwiejszej analizy proponowałabym umieścić pod nią opis.

Piśmiennictwo zawiera 176 pozycji, zarówno polskich jak i zagranicznych, jest zebrane i przedstawione prawidłowo. Praca jest napisana bardzo starannie, poprawnym językiem, w bardzo czytelny sposób przedstawia omawiany problem.

Z uzyskanych wyników Autorka wyciągnęła trzy bardzo szczegółowe wnioski z których wynika, że patofizjologia depresji może być związana ze zmianami w poziomie transporterów cynkowych. Różnice w ekspresji ZnT1, ZnT3 i ZnT4 w PFC i Hp wskazują na inny mechanizm regulacji tych białek w różnych strukturach mózgu w depresji. Brak zmian w poziomie transporterów po podaniu AMI sugeruje, że mechanizm działania tego leku nie wiąże się ze zmianami w poziomie transporterów.

W mojej ocenie prezentowana dysertacja stanowi bardzo interesujące doniesienie badające mechanizmy związane z homeostazą cynku w organizmie zarówno ludzkim jak i w modelu zwierzęcym. Niemniej jednak doniesienie to

wymaga potwierdzenia na większej ilości prób oraz proponowałabym zastosować w modelach zwierzęcych leki p/depresyjne o innych niż TLPD mechanizmach działania.

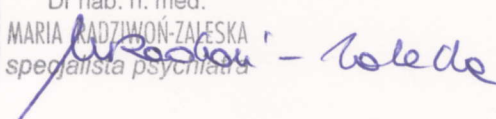
W pracy zabrakło mi również potencjalnego odniesienia/przełożenia uzyskanych wyników do praktyki klinicznej.

W tekście pojawiają się nieliczne błędy literowe oraz gramatyczne, które w niczym nie umniejszają wartości ocenianej dysertacji.

W końcowej ocenie stwierdzam, że recenzowana rozprawa doktorska **mgr ANNY RAFAŁO-ULIŃSKIEJ** spełnia warunki określone w art. 13.1 Ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U. nr 65 poz. 595 z późn. zmianami) i wnioskuję do Rady Wydziału Biologii Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie o dopuszczenie **mgr ANNY RAFAŁO-ULIŃSKIEJ** do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Równocześnie, biorąc pod uwagę oryginalność oraz wartość poznawczą przedstawionej rozprawy, uważam, iż w pełni kwalifikuje się do publikacji w międzynarodowym, renomowanym czasopiśmie naukowym (część wyników już została opublikowana), wnoszę zatem o **WYRÓŻNIENIE** recenzowanej pracy.

3734993

Dr hab. n. med.
MARIA RADZIWIŃ-ZAŁĘSKA
specjalista psychiatrii

Warszawa, 07 października 2018 r.