

2015-07-02

Ren Drinien Niedzielski



Dziekanat
Wydziału Wojskowo-Lekarskiego

wpłynęło dn. 2015-07-02

podpis *On* l.dz. 1425

Uniwersytet Łódzki

DZIEKAN Wydział Biologii i Ochrony Środowiska
Wydziału Wojskowo-Lekarskiego
Uniwersytetu Medycznego w Łodzi Katedra Genetyki Molekularnej

Prof. zw. dr hab. n. med. Józef Ciszowski

dr hab. Tomasz Śliwiński prof. nadzw. UŁ

Łódź, dnia 29 czerwca 2015 r.

Katedra Genetyki Molekularnej

Uniwersytetu Łódzkiego

O c e n a

pracy doktorskiej lek. Joanny Mossakowskiej-Wójcik

**pt.: „ZNACZENIE GENÓW *AMBRA1*, *NRGN* I *TCF4* W ETIOLOGII ZABURZEŃ
DEPRESYJNYCH NAWRACAJĄCYCH”**

Zaburzenia depresyjne nawracające są jedną z najczęściej diagnozowanych jednostek chorobowych wśród zaburzeń psychicznych i niestety obserwowany jest ciągły wzrost tej choroby. Dodatkowym bardzo istotnym aspektem wpływającym na skuteczność jej zapobiegania, jak i leczenia jest wieloczynnikowość etiologiczna tej choroby, na którą składają się zarówno czynniki środowiskowe, oraz elementy molekularne. Cały czas na świecie prowadzone są intensywne badania, których celem jest zidentyfikowanie poszczególnych elementów mających wpływ na rozwój depresji, ale niestety wiedza z nich wypływająca jest wciąż na niezadawalającym poziomie.

Ze względu na bardzo ograniczoną wiedzę dotyczącą profilu molekularnego dla genów, które mogą być zaangażowane w mechanizmy związane z rozwojem mózgu oraz różnicowaniem neuronów, w kontekście powstawania zaburzeń depresyjnych nawracających, uważam za bardzo zasadne podjęcie badań zaprezentowanych w recenzowanej rozprawie doktorskiej.

Oceniana rozprawa ma typowy układ dysertacji doktorskiej. W części poglądowej (20 stron) Doktorantka opisała kilka zagadnień pozostających w ścisłym związku z wykonywanym projektem badawczym. Wśród nich lek. Joanna Mossakowska-Wójcik szczegółowo opisała

epidemiologię oraz wybrane czynniki patogenetyczne w kontekście zaburzeń depresyjnych nawracających. W części końcowej wstępu Doktorantka dokładnie scharakteryzowała analizowane w pracy czynniki molekularne biorące udział w procesach związanych z rozwojem mózgu oraz różnicowaniem neuronów. Część ta została poparta, bardzo dobrze dobranymi, pozycjami literaturowymi, w większości pochodzącymi z ostatnich kilku lat.

Głównym celem pracy była, niepodjęta do tej pory, ocena wpływu produktów genów *AMBRA1*, *NRGN* i *TCF4* na poziomie mRNA i białka, na etiopatologię zaburzeń depresyjnych nawracających. Dodatkowo Doktorantka postawiła sobie za cel odnalezienie korelacji pomiędzy obserwowanymi zmianami w ekspresji badanych genów, a stopniem nasilenia objawów choroby, zmiennymi klinicznymi jej przebiegu oraz wiekiem zachorowania.

W swojej pracy Doktorantka zajęła się analizą poziomu ekspresji 3 genów związanych z mechanizmami rozwojowymi mózgu oraz różnicującymi neurony tj. *AMBRA1*, *NRGN* i *TCF4*. Geny te zostały poddane analizie w komórkach krwi obwodowej pobranej od 260 osób, w tym 170 pacjentów z rozpoznaniem F32 lub F33 wg ICD-10 oraz 90 osób zdrowych. Dodatkowo analizowano występowanie zależności pomiędzy poziomem ekspresji badanych genów, a cechami klinicznymi dla tego schorzenia.

Podczas realizacji tych zadań lek. Joanna Mossakowska-Wójcik opanowała i zastosowała szereg metod wymagających precyzji i czasu. Znalazły się wśród nich: izolacja całkowitego RNA z komórek ludzkiej krwi obwodowej, analiza jakości uzyskanych kwasów nukleinowych, ilościowa reakcja łańcuchowa polimerazy (RealTime –PCR) oraz oznaczanie stężenia białka całkowitego w osoczu krwi za pomocą zestawu MicroBCA Protein Assay Kit, czy też z wykorzystaniem testu immunoenzymatycznego ELISA.

Dobrze zaplanowany projekt badawczy i jego konsekwentna realizacja z wykorzystaniem właściwie dobranych metod, wnikliwa statystyczna ocena otrzymanych wyników zaowocowała uzyskaniem interesujących, oryginalnych ustaleń, m.in.

Ekspresja na poziomie mRNA i na poziomie białka dla genów *AMBRA1*, *NRGN* i *TCF4* może mieć znaczenie w patomechanizmie zaburzeń depresyjnych nawracających.

Wpływ ekspresji na poziomie mRNA i na poziomie białka dla genów *AMBRA1*, *NRGN* i *TCF4* na rozwój zaburzeń depresyjnych nawracających jest niezależny od płci i wieku.

Wyniki badań własnych Doktorantka zilustrowała za pomocą przejrzystych, dobrze skonstruowanych 10 rycin i dobrze opisanych 11 tabel. W mojej ocenie, bardzo dobry sposób przedstawienia wyników uzyskanych przez Doktorantkę świadczy o dużej dojrzałości

naukowej Autorki recenzowanej rozprawy doktorskiej. Wykaz skrótów pozwala na łatwe zapoznawanie z treścią zawartą w rozprawie.

Dyskusja jest napisana bardzo dojrzałe, gdzie Doktorantka analizuje dogłębnie swe wyniki, porównuje z wynikami podobnych badań wykonanych przez inne zespoły badawcze, oraz wyjaśnia mechanizmy mogące leżeć u podstaw zaobserwowanych korelacji. Co jest godne podkreślenia, na tle dotychczas przeprowadzonych na świecie badań Autorka ukazuje nowatorskość swojego podejścia w temacie etiologii zaburzeń depresyjnych.

W pracy znalazły się nieliczne błędy edytorskie, co na tak obszerną rozprawę (102 str.) jest godne podkreślenia. W tym miejscu z obowiązku recenzenta przedstawiam uwagi dotyczące drobnych, nielicznych uchybień oraz własne sugestie:

Chciałbym przytoczyć przykładowe stwierdzenia, które zostały popełnione w pracy np. „patomechanizmie” czy też zamiast "poziom ekspresji mRNA" powinno być bardziej poprawnie "poziom mRNA". Autorka powinna unikać także tzw. żargonu laboratoryjnego np. „odpipetowano”.

Wnioski 2 i 3 mogłyby stanowić jedność.

Moje drobne zastrzeżenie budzi dysproporcja pomiędzy grupą badaną, a grupą kontrolną, na niekorzyść tej drugiej. Zbliżona liczebność analizowanych grup zwiększyłaby moc statystyczną uzyskanych wyników.

Biorąc powyższą uwagę oraz to, że wyniki badań przedstawione w recenzowanej pracy doktorskiej należy uznać za oryginalne i istotne z punktu widzenia diagnostyki zaburzeń depresyjnych nawracających chciałbym zadać pytanie: czy istnieje możliwość kontynuacji tych wartościowych badań w Klinice Psychiatrii Dorosłych UM, poszerzonych o liczniejszą pulę pacjentów w celu zwiększenia mocy statystycznej badań, co z kolei, w przypadku otrzymania istotnych korelacji, mogłoby w przyszłości pozwolić na zwiększenie grupy markerów diagnostyczno-prognostycznych dla tego typu schorzenia?

Pełną, przyszłościową odpowiedź dotyczącą roli produktów analizowanych genów w zaburzeniach depresyjnych nawracających uzupełniłyby badania przeprowadzone na komórkach mózgu pochodzącego od pacjentów z tą chorobą, jednakże zdaję sobie sprawę z tego, iż uzyskanie takiego materiału *post mortem* nie jest sprawą łatwą, a niejednokrotnie niemożliwą. Alternatywą dla tego mogłyby być badania *in vivo* prowadzone na odpowiednim modelu mysim, do czego bardzo zachęcam badaczy.

Czy zmiany poziomu ekspresji wybranych w pracy genów skojarzone są głównie ze zmiennością genetyczną samych genów, czy też mogą być także związane ze zmienionym poziomem czynników regulujących ich ekspresję np. na poziomie epigenetycznym?

W związku z powyższym ciekawym wydaje się być określenie korelacji pomiędzy zmienionym poziomem ekspresji wybranych w pracy genów, a polimorfizmami pojedynczych nukleotydów występujących, bądź to w obrębie samych genów, jak i w ich sekwencjach regulatorowych.

Te drobne uwagi mają charakter roboczy i nie zmieniają mojej wysokiej oceny niniejszej dysertacji. Praca ta stanowi dobry przykład samodzielnego rozwiązania projektu badawczego, który w niedługim czasie może przynieść wymierne efekty praktyczne, oparte o nowe markery diagnostyczne, niezbędne we właściwej ocenie ryzyka oraz stopnia zaawansowania zaburzeń depresyjnych nawracających.

Promotor dysertacji prof. UMED dr. hab. n. med. Piotr Gałęcki oraz Doktorantka są współtwórcami tej pracy, którą z pełnym przekonaniem można określić mianem sukcesu naukowego, zwłaszcza że uzyskane oryginalne wyniki są unikatowe w skali światowej.

W podsumowaniu stwierdzam, że przedstawiona mi do oceny rozprawa doktorska spełnia warunki określone w art. 13 Ustawy z dnia 14 marca 2003r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. nr 65, poz. 595 z późn. zm.). Uwzględniając idee i koncepcje badawcze oraz warsztat praktyczny zastosowany w pracy, z przyjemnością przedkładam do Wysokiej Rady Wydziału Wojskowo-Lekarskiego Uniwersytetu Medycznego w Łodzi wniosek o dopuszczenie Pani lek. Joanny Mossakowskiej-Wójcik do dalszych etapów przewodu doktorskiego, oraz ze względu na wysoce nowatorski charakter tej dysertacji, wnioskuję o wyróżnienie recenzowanej pracy doktorskiej.



dr hab. Tomasz Śliwiński prof. nadzw. UŁ