

Zapoznałam się z recenzją 16.09.2021

PRODZIEKAN DS. NAUKI
WYDZIAŁ LECZEŃSKIEGO UNIWERSYTETU MEDYCZNEGO
MATEUSZ KOWALCZYK

Prof. dr hab. n. med. Agata A. Filip
Zakład Genetyki Nowotworów z Pracownią Cytogenetyczną
Uniwersytetu Medycznego w Lublinie



Recenzja rozprawy doktorskiej lek. Mateusza Kowalczyka pt.

„Związek polimorfizmu genów dojrzewania mikroRNA z depresją”

**przygotowanej pod kierunkiem naukowym dr hab. n. zdr. Moniki Talarowskiej, prof. UŁ
oraz prof. dr hab. n. biol. Tomasza Popławskiego.**

Recenzję sporządzono w oparciu o pismo Pani Prodziekan ds. Nauki Wydziału Lekarskiego Uniwersytetu Medycznego w Łodzi z dnia 30.06.2021 roku, oraz przepisy:

1. Ustawy z dnia 14 marca 2003 r. *O stopniach naukowych i tytułach naukowych oraz o stopniach i tytułach w zakresie sztuki* (Dz. U. z 2017 roku, poz. 1789),
2. Ustawy z dnia 3 lipca 2018 roku *Przepisy wprowadzające ustawę – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce* (Dz. U. z 2018 roku, poz. 1669) oraz
3. Rozporządzenia Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z dnia 19 stycznia 2018 r. *w sprawie szczegółowego trybu i warunków przeprowadzania czynności w przewodach doktorskich, w postępowaniu habilitacyjnym oraz w postępowaniu o nadanie tytułu profesora* (Dz. U. z 2018 roku, poz. 261).

Opinia ogólna

Przedłożona mi do recenzji dysertacja Pana lek. med. Mateusza Kowalczyka jest pracą, którą należy ocenić bardzo pozytywnie. Podjęty przez Doktoranta temat jest aktualny i istotny dla rozwoju wiedzy o molekularnej patogenezie depresji. Koncepcja badania jest przemyślana, metody badawcze dobrane adekwatnie, a sama praca przygotowana i napisana w sposób świadczący o dużej znajomości tematu. Warto podkreślić, iż zagadnienie niekodujących RNA, którego zgłębienia podjął się lek. Mateusz Kowalczyk, jest trudne, i niewielu klinicystów

miałoby odwagę się z nim zmierzyć. Badania polimorfizmów genów dojrzewania mikroRNA w depresji, które zaprezentował Doktorant, nie były jeszcze wykonywane w populacji polskiej.

Ocena szczegółowa

Zgodnie z obowiązującą Międzynarodową Statystyczną Klasyfikacją Chorób i Problemów Zdrowotnych ICD-10 w grupie zaburzeń psychicznych i zaburzeń zachowania wyróżniana jest obszerna kategoria zaburzeń nastroju, do której należy depresja. Amerykańskie Towarzystwo Psychiatryczne (American Psychiatry Association) definiuje depresję jako częstą i poważną chorobę, wpływającą na wiele aspektów życia, nie tylko na samopoczucie, sposób myślenia i zachowanie osoby chorej, ale także na funkcjonowanie całych społeczeństw. Według szacunków IHME (Institute for Health Metrics and Evaluation) zaburzenia depresyjne były w 2017 roku drugimi (po zaburzeniach lękowych) najczęściej występującymi zaburzeniami psychicznymi, w Unii Europejskiej chorowało na nie około 20.7 mln osób, co stanowi 4.2% populacji. Co prawda szacunki dla Polski z tego samego okresu czasu są niższe (1 mln osób chorych, 2.8% populacji), niewątpliwie jednak liczba zachorowań na całym świecie wykazuje tendencję wzrostową, do czego w znacznym stopniu przyczyniła się i przyczynia nadal pandemia COVID-19.

Zaburzenia afektywne, do których należy depresja, są przykładem uogólnionego zachwiania homeostazy organizmu. Z punktu widzenia genetyki klasycznej depresja jest chorobą wieloczynnikową – poza silnie wyrażoną komponentą dziedziczną (co pokazały badania bliźniąt jednojajowych) i opisywanymi zmianami wielu różnych genów, bardzo ważne znaczenie ma także wpływ środowiska zewnętrznego. Patogeneza molekularna depresji jest bardzo złożona, obserwowane w jej przebiegu zmiany dotyczą różnych szlaków przekazywania sygnału, białek przekaźnikowych, kodujących je genów, a także mechanizmów epigenetycznych, istotnych dla regulacji ekspresji genów. Obserwowany ostatnio rozwój nowych technik badawczych pozwolił rzucić nowe światło na tą dziedzinę epigenetyki, która związana jest z obecnością niedocenianego wcześniej świata niekodujących cząsteczek RNA. Szczegółowe zbadanie zaburzeń genów, związanych z dojrzewaniem tych cząsteczek, w przebiegu depresji, czego podjął się w swojej pracy lek. Mateusz Kowalczyk, jest kluczowe nie tylko dla poprawy efektywności procesu diagnostycznego, ale przede wszystkim dla stworzenia skutecznej terapii.

Przedstawiona mi do oceny dysertacja liczy 78 stron i ma typowy układ rozdziałów. Jest napisana poprawnie, ładną polszczyzną. Na początku pracy Doktorant umieścił alfabetyczny wykaz stosowanych skrótów. Tekst uzupełniają dwie ryciny oraz 19 tabel. Cytowane piśmiennictwo jest w większości aktualne i bardzo obfite, obejmuje 216 pozycji literaturowych. Dane bibliograficzne przedstawione są w sposób uporządkowany i zgodny z zasadami. W załącznikach zamieszczono kopię dokumentu Komisji Bioetycznej, pozytywnie opiniującej ten projekt badawczy, oraz pełną wersję Skali Oceny Depresji Hamiltona.

We *Wstępie* pracy Doktorant przedstawia depresję jako problem zdrowia publicznego, opisuje jej epidemiologię i wybrane hipotezy dotyczące patofizjologii choroby. Charakterystyka hipotezy monoaminowej, hipotezy zwiększonej aktywności osi podwzgórze - przysadka mózgowa - nadnercza, hipotezy neurotroficznej i immunologicznej przedstawiona jest w sposób świadczący o dużej znajomości tematu. Kolejne części dotyczą roli genetyki i epigenetyki – tu lek. Mateusz Kowalczyk równie swobodnie opisuje znaczenie metylacji DNA, modyfikacji białek histonowych oraz zjawiska interferencji RNA i roli cząsteczek mikroRNA. Przedstawiony jest także pokrótce proces dojrzewania miRNA, którego składowe są przedmiotem ocenianej pracy. Autor podejmuje się zweryfikowania założenia, iż zaburzenia w dojrzewaniu miRNA mogą być przyczyną depresji. Założenie to jest zasadne i dobrze umotywowane, być może należałoby tylko trochę zmodyfikować samo sformułowanie przyjmując, że zaburzenia takie mogą być jedną z, a nie jedyną przyczyną depresji.

Celem pracy lek. Mateusza Kowalczyka jest ocena związku depresji z polimorfizmami pojedynczego nukleotydu (SNP) dziesięciu genów, kodujących białka związane z dojrzewaniem cząsteczek miRNA (*DROSHA*, *DGCR8*, *XPO5*, *RAN*, *DICER1*, *TARBP2*, *AGO1*, *AGO2*, *GEMIN3*, *GEMIN4*). Koncepcja badania jest właściwa, w badaniu uwzględniono w sumie 15 polimorfizmów, brakuje mi jednak wyjaśnienia czym kierowano się wybierając do oceny te konkretne SNP, czy któreś z nich były analizowane w depresji po raz pierwszy?

Badanie zostało przeprowadzone na odpowiednio dobranej grupie badanej i grupie porównawczej. Grupy te były wystarczająco liczne, aby wyniki analiz statystycznych były wiarygodne (odpowiednio 101 i 117 osób). Badani wyrazili świadomą zgodę na udział w projekcie, a protokół badania został zatwierdzony przez odpowiednią Komisję Bioetyczną. Materiałem badanym było DNA izolowane z krwi obwodowej, wybrane polimorfizmy analizowano metodą łańcuchowej polimerazy w czasie rzeczywistym wykorzystując gotowe sondy i zestawy TaqMan. Sprawdzono zgodność rozkładu genotypów z równowagą Hardy-

Weinberga, do badania ocenianych zależności zastosowano adekwatne testy statystyczne. Związek poszczególnych polimorfizmów z wystąpieniem depresji oceniano w badaniach asocjacyjnych analizując model kodominujący, dominujący, recesywny i naddominujący.

Wyniki przedstawione są w postaci czytelnych, dobrze opisanych tabel. Ponieważ analizowanych polimorfizmów jest kilkanaście, dobrym pomysłem było umieszczenie na końcu rozdziału krótkiego podsumowania. Lek. Mateusz Kowalczyk wykazał, iż polimorfizmy genów dojrzewania miRNA mogą mieć znaczenie dla ryzyka wystąpienia depresji. W badanej populacji ryzyko wystąpienia depresji zwiększała obecność określonych genotypów wariantów polimorficznych rs10719 i rs6877842 genu *DROSHA*, rs11077 genu *XPO5*, rs784567 genu *TARBP2*, rs197388 genu *GEMIN3* oraz rs3744741 genu *GEMIN4*. Genotyp C/A polimorfizmu rs4961280 genu *AGO2* wiązał się z niższym ryzykiem wystąpienia choroby, natomiast w przypadku rs7813 genu *GEMIN4* ryzyko jest niższe dla genotypu G/A, a wyższe dla genotypu A/A.

Bardzo mocnym elementem rozprawy jest *Dyskusja*. Jest ona prowadzona bardzo swobodnie, a jej zakres świadczy o świetnej znajomości tematyki i dojrzałości naukowej Doktoranta. Przytacza On publikacje, dotyczące badań genów dojrzewania miRNA nie tylko w depresji, ale także w całym spektrum innych chorób: w schorzeniach neurologicznych, chorobach neurodegeneracyjnych, nowotworowych, a nawet stanie przedrzucawkowym. Pokazuje konsekwencje określonych zmian genomu dla poziomu ekspresji genów i rodzaju kodowanych białek, przedstawia próby wykorzystania ekspresji miRNA jako czynnika diagnostycznego i prognostycznego. Próbuje także zgłębić znaczenie zmian genów niezwiązanych z dojrzewaniem miRNA w patogenezie depresji. Ostatnia część tego rozdziału dotyczy wykorzystania miRNA jako celu terapii i związanych z tym badań.

Kolejna część pracy, zatytułowana *Postscriptum*, jest właściwie częścią dyskusji, w której Doktorant wyjaśnia znaczenie równowagi Hardy-Weinberga w badaniach populacyjnych, oraz próbuje znaleźć przyczynę faktu, że rozkład genotypów pięciu badanych przez niego polimorfizmów nie był zgodny z warunkiem równowagi HW. Prowadzona przez lek. Mateusza Kowalczyka narracja świadczy o dogłębnym przemyśleniu problemu i świadomości pewnych ograniczeń, które mogą wymagać poszerzenia grupy badanej.

Pracę podsumowują trzy zwięzłe, merytoryczne wnioski, oddające istotę obserwacji.

W podsumowaniu mogę stwierdzić, że praca jest bardzo ciekawa i wartościowa z merytorycznego punktu widzenia. Nowe zależności, które Doktorantowi udało się

zaobserwować, są cenne poznawczo i mogą przyczynić się do dalszych badań nad patogenezą depresji. Odnoszę wrażenie, że niedostatecznie podkreślony został fakt, iż tego typu badań nie prowadzono dotychczas w polskiej populacji. Uzyskane wyniki mają szansę na publikację w czasopiśmie o wysokim współczynniku wpływu.

Obowiązkiem recenzenta jest też wskazanie pewnych uchybień edytorskich – warto zwrócić uwagę, iż nazwy genów ludzkich piszemy dużymi literami, kursywą (antykwa zarezerwowana jest dla pisowni nazw białek), kursywą także piszemy zapożyczenia z języka łacińskiego.


Konkluzja

Dysertacja Pana lek. Mateusza Kowalczyka pt. „Związek polimorfizmu genów dojrzewania mikroRNA z depresją” stanowi samodzielne rozwiązanie problemu naukowego i jest dowodem dużej wiedzy teoretycznej Autora, a zatem w pełni spełnia kryteria rozprawy naukowej na tytuł doktora nauk medycznych w dyscyplinie nauki medyczne, zgodnie z warunkami Ustawy z dnia 14 marca 2003 r. *O stopniach naukowych i tytułach naukowych oraz o stopniach i tytułach w zakresie sztuki* (Dz. U. z 2017 roku, poz. 1789).

Mam zatem zaszczyt przedstawić Wysokiej Radzie Dyscypliny Nauki Medyczne Uniwersytetu Medycznego w Łodzi wniosek o dopuszczenie lek. Mateusza Kowalczyka do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Jednocześnie, biorąc pod uwagę duży wkład pracy Doktoranta, nowatorstwo badań w populacji polskiej oraz poznawcze i praktyczne znaczenie rozprawy, wnioskuję o jej wyróżnienie.

Lublin, 8.09.2021

KIEROWNIK
Zakładu Genetyki Nowotworów
z Pracownią Cytogenetyczną

prof. dr hab. n. med. Agata Filip

