

Warszawa, 20.06.2022

Prof. dr hab. Agata Szulc

Klinika Psychiatryczna Wydział Nauki o Zdrowiu

Warszawski Uniwersytet Medyczny

Recenzja rozprawy doktorskiej lek. Ewy Gromniak-Haneckiej pt. „Neuroplastyczność a zaburzenia depresyjne. Znaczenie genów: ELAVL4, REST, HOMER, MKL1 i MKL2”.

Zaburzenia depresyjne należą do jednych z najpoważniejszych chorób psychicznych o heterogennym modelu dziedziczenia i zwiększającym się corocznie odsetku zachorowań. Etiologia zaburzeń depresyjnych wciąż pozostaje nie do końca poznana, przyjmuje się, iż jest uwarunkowana wieloczynnikowo. Nadal prowadzone są badania identyfikujące wpływ ekspresji różnych genów na powstawanie i rozwój zaburzeń depresyjnych. Coraz częściej podnosi się rolę zjawiska neuroplastyczności w zaburzeniach depresyjnych. Wciąż badany jest wpływ czynników genetycznych na rozwój mózgu, różnicowanie neuronów i na ich związek z depresją.

W związku z powyższymi uwagami uważam temat podjęty przez doktorantkę uważam za bardzo trafny i interesujący.

Całość rozprawy liczy 166 stron, 63 tabele, 54 ryciny, 120 pozycji piśmiennictwa, streszczenie w języku polskim i angielskim i załączniki.

We wstępie autorka przedstawia przegląd literatury dotyczącej zaburzeń depresyjnych, teorii wyjaśniających patofizjologię depresji, a także neuroplastyczności w aspekcie depresji. Autorka wyjaśnia również powody wyboru odpowiednich genów do oceny ich ekspresji u pacjentów z depresją.

Następnie autorka przedstawiła cele swojej pracy:

Celem pracy jest poznanie związku pomiędzy ekspresją na poziomie mRNA oraz na poziomie białka dla wybranych genów a występowaniem zaburzeń depresyjnych, nasileniem objawów depresji i przebiegiem klinicznym choroby.

Szczegółowym celem podjętej pracy badawczej jest:

1. Ocena ekspresji na poziomie mRNA i na poziomie białka dla genów ELAVL4, HOMER, REST, MKL1 i MKL2 w grupie osób z zaburzeniami depresyjnymi i w grupie osób z zaburzeniami depresyjnymi z towarzyszącymi chorobami somatycznymi oraz w grupie kontrolnej.
2. Ocena związku między ekspresją na poziomie mRNA i na poziomie białka dla genów ELAVL4, HOMER, REST, MKL1 i MKL2 a zmiennymi klinicznymi i socjodemograficznymi w grupie osób z zaburzeniami depresyjnymi i w grupie osób z zaburzeniami depresyjnymi z towarzyszącymi chorobami somatycznymi oraz w grupie kontrolnej.

Badanie zostało przeprowadzone w Klinice Psychiatrii Dorosłych Uniwersytetu Medycznego w Łodzi i w Wojewódzkim Szpitalu dla Nerwowo i Psychicznie Chorych w Świeciu w okresie od 19 lipca 2018.

W badaniu wzięły udział łącznie 184 osoby w wieku od 18-65 lat, w grupie badanej I (N=68), w grupie badanej II (N=67) i w grupie kontrolnej (N=49). Wszyscy badani byli rodowitymi, niespokrewnionymi Polakami, zdolnymi do wyrażenia świadomej zgody.

Osoby biorące udział w badaniu z grupy badanej I i II otrzymywały farmakologiczne leczenie przeciwdepresyjne. Udział w badaniu nie był związany ze zmianą prowadzonego leczenia. Osoby z grupy badanej I i II spełniały kryteria rozpoznania zaburzeń depresyjnych nawracających, epizodu depresyjnego lub organicznych zaburzeń depresyjnych, rozpoznanych według obowiązującej klasyfikacji zaburzeń psychicznych i zaburzeń zachowania ICD-10. Nasilenie objawów zaburzeń depresyjnych w grupach badanych I i II oceniane było dwukrotnie za pomocą Skali Depresji Hamiltona w dniu włączenia do badania i po uzyskaniu odpowiedzi na leczenie (średnio po 8-10 tygodniach terapii). U wszystkich pacjentów w grupach badanych I i II oceniany był czas trwania choroby, wiek zachorowania, liczba przebytych epizodów

depresyjnych według ustalonych metod badania. Kryterium wykluczającym udział w badaniu było rozpoznanie choroby nowotworowej, poważnej choroby neurologicznej, przewlekłej choroby o podłożu zapalnym.

Od wszystkich osób biorących udział w badaniu pobrana została krew dwukrotnie przez wykwalifikowany personel medyczny, w dniu włączenia do badania oraz po uzyskaniu odpowiedzi na leczenie, każdorazowo w ilości 10ml – 2 probówki o objętości 5ml. Krew żylna była pobierana na czczo, przy użyciu sterylnego sprzętu jednorazowego użytku.

Probówka na wykrzepianie została zamrożona w temperaturze minus 20°C. Probówka z EDTA została odwirowana w parametrach: 1500 x g przez 10 minut w temperaturze 4°C; osocze i osad zostały zebrane do osobnych probówek typu Eppendorf o pojemności 2ml i zostały zamrożone w temperaturze minus 20°C. Wirówka laboratoryjna – model MPW-351R, rok produkcji 2009.

Pobrany materiał badawczy został opracowany w Katedrze i Zakładzie Biochemii Medycznej Uniwersytetu Medycznego w Łodzi.

Uzyskane wyniki posłużyły do oceny znaczenia polimorfizmu i ekspresji badanych genów ELAVL4, REST, HOMER, MKL1 i MKL2.

I Grupę badaną (68 osób), stanowiły osoby hospitalizowane w Wojewódzkim Szpitalu dla Nerwowo i Psychicznie Chorych w Świeciu. Osoby zakwalifikowane do tej grupy spełniały, według obowiązującej klasyfikacji zaburzeń psychicznych i zaburzeń zachowania ICD-10, kryteria diagnostyczne rozpoznania epizodu depresyjnego (F32), zaburzeń depresyjnych nawracających (F33) lub organicznych zaburzeń nastroju (F06.3). II Grupę badaną (67 osób) stanowiły osoby, które były hospitalizowane w Wojewódzkim Szpitalu dla Nerwowo i Psychicznie Chorych w Świeciu. Osoby zakwalifikowane do grupy spełniały, według obowiązującej klasyfikacji zaburzeń psychicznych i zaburzeń zachowania zawartych ICD-10, kryteria diagnostyczne dla epizodu depresyjnego (F32), zaburzeń depresyjnych nawracających (F33) lub organicznych zaburzeń nastroju (F06.3) z współtowarzyszącymi chorobami somatycznymi: choroba wieńcowa, nadciśnienie tętnicze, POCHP, astma lub inne: niedoczynność tarczycy, cukrzyca, hiperlipidemia.

Grupę kontrolną (49 osób) stanowiły osoby zdrowe z negatywnym wywiadem w kierunku rozpoznania epizodu depresyjnego (F32), zaburzeń depresyjnych nawracających (F33) lub

organicznych zaburzeń nastroju (F06.3) według obowiązującej klasyfikacji zaburzeń psychicznych i zaburzeń zachowania ICD-10 i negatywnym wywiadem w kierunku rozpoznania chorób somatycznych (ocena na podstawie badania lekarskiego).

Dodatkowo zbierano dane socjodemograficzne na podstawie autorskiego kwestionariusza. W celu pomiaru istotności statystycznej pomiędzy badanymi grupami wykonano analizę statystyczną przy użyciu nieparametrycznego testu U Manna – Whitneya oraz Anova rang Kruskala-Wallisa i test Dunna. Analizę statystyczną badanych cech zmiennych, niemierzalnych wykonano w oparciu o nieparametryczny test χ^2 Pearsona. W pracy ze względu na rozkład i charakter badanych cech zastosowano współczynnik korelacji kolejnościowej rang Spearmana. Za najniższy poziom istotności statystycznej przyjęto $p < 0,05$.

Zastosowane metody i procedury są trafne i prawidłowe.

W dalszej części pracy autorka przedstawia wyniki swoich badań.

W przeprowadzonym badaniu uzyskano istotne statystycznie różnice ekspresji badanych genów wśród osób z zaburzeniami depresyjnymi w obu grupach w porównaniu do osób zdrowych. Analiza statystyczna wykazała dodatnią korelację dla genu HOMER i wieku oraz istotny statystycznie wpływ na ekspresję genu MKL1 na poziomie białka w grupie osób zdrowych dla struktury płci.

Na koniec autorka przedstawia dyskusję i ograniczenia pracy.

Na podstawie analizy wyników badania sformułowano następujące wnioski:

1. Ekspresja genów HOMER, ELAVL4, REST, MKL1, MKL2 ma znaczenie w patogenezie zaburzeń depresyjnych, w szczególności:
 - a. Ekspresja genu ELAVL4 na poziomie mRNA i na poziomie białka jest niższa w grupie osób z zaburzeniami depresyjnymi i grupie osób z zaburzeniami depresyjnymi ze współchorobowością w porównaniu z osobami zdrowymi.

- b. Ekspresja genu HOMER na poziomie mRNA i na poziomie białka jest najwyższa w grupie osób zdrowych w porównaniu z grupą osób z zaburzeniami depresyjnymi ze współchorobowością i grupą osób z zaburzeniami depresyjnymi.
 - c. Ekspresja genu REST na poziomie mRNA jest wyższa w grupie osób z zaburzeniami depresyjnymi i grupie osób z zaburzeniami depresyjnymi ze współchorobowością w porównaniu z osobami zdrowymi natomiast na poziomie białka jest niższa w grupie osób z zaburzeniami depresyjnymi i grupie osób z zaburzeniami depresyjnymi ze współchorobowością w porównaniu z osobami zdrowymi.
 - d. Ekspresja genu MKL1 na poziomie mRNA i na poziomie białka jest niższa w grupie osób z zaburzeniami depresyjnymi i grupie osób z zaburzeniami depresyjnymi ze współchorobowością w porównaniu z osobami zdrowymi.
 - e. Ekspresja genu MKL2 na poziomie mRNA jest niższa w grupie osób z zaburzeniami depresyjnymi i osób z zaburzeniami depresyjnymi ze współchorobowością w porównaniu z osobami zdrowymi natomiast na poziomie białka nie wykazuje istotności statystycznej.
2. Wiek wykazuje dodatnią korelację na ekspresję genu HOMER na poziomie białka i na poziomie mRNA w grupie osób zdrowych.
 3. Poziom wykształcenia i liczba epizodów depresyjnych nie wpływa istotnie statystycznie na ekspresję genów ELAVL4, REST, HOMER, MKL1, MKL2 zarówno na poziomie białka jak i na poziomie mRNA.
 4. Płeć posiada istotny statystycznie wpływ na ekspresję genu MKL1 na poziomie białka w grupie osób zdrowych.

Ograniczenia omówione przez autorkę należałoby poddać dyskusji i ocenić ewentualny wpływ tych danych na wyniki. Dotyczy to zwłaszcza wieku i płci badanych, szczególnie biorąc pod uwagę treść wniosku nr 4. Do ograniczeń należy dodać też włączenie organicznych zaburzeń nastroju do badań, patofizjologia tych zaburzeń może być zupełnie inna. We wnioskach należałoby dodać podsumowanie ewentualnych różnic pomiędzy pacjentami z współwystępującymi z depresją chorobami somatycznymi i pacjentami bez takich zaburzeń.

Ogólnie wnioski są podsumowaniem wyników, mają charakter stwierdzenia faktów ogólnych, (np. Płeć posiada istotny wpływ) a dotyczą raczej grupy badanej. Warto byłoby dodać wniosek wiążący wyniki badań z neuroplastycznością w depresji.

Badania były wykonywane na początku leczenia i po uzyskaniu poprawy – dotyczy to oceny w skali Hamiltona, natomiast nie jest jasne, czy dotyczy to też oceny ekspresji genów – w tabelach powtarza się opis „Analiza statystyczna zmiany ekspresji na poziomie białka ...”, str. 58, tab. 22 (przykładowo). Czy wyniki dotyczą zmiany czy raczej badania na początku leczenia (co wydaje się być założeniem badania). W tej sytuacji może warto byłoby ocenić, czy wyniki dotyczące ekspresji genów uległy zmianie.

Podsumowując, nieliczne krytyczne uwagi nie wpływają na końcową, bardzo pozytywną ocenę pracy. Metodologia i przebieg badania miały solidne podstawy w przedstawionym we wstępie przeglądzie literatury. Należy podkreślić dużą liczbę zbadanych osób. Badania były czasochłonne, wymagały pracowitości i dokładności. Autorka dokonała rzetelnej analizy zebranych danych. Przeprowadzona dyskusja także wskazuje na dobry warsztat naukowy autorki, podkreślić należy solidną bazę naukową. W związku z tym, uważam, że praca lek. Ewy Gromniak-Haneckiej ujawnia niezwykle ciekawe aspekty dotyczące depresji w aspekcie neuroplastyczności.

Praca spełnia wszelkie wymagania stawiane rozprawom doktorskim, stanowi samodzielne rozwiązanie problemu naukowego i wykazuje ogólną wiedzę teoretyczną autorki.

Dlatego mam zaszczyt przedstawić wysokiej Radzie Nauk Medycznych Uniwersytetu Medycznego w Łodzi wniosek o dopuszczenie lek. Ewy Gromniak-Haneckiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Prof. dr hab. Agata Szulc
KIEROWNIK
Kliniki Psychiatrycznej
Wydziału Nauki o Zdrowiu
prof. dr hab. Agata Szulc