

Warszawa, 20.06.2022

Prof. dr hab. Agata Szulc

Klinika Psychiatryczna Wydział Nauki o Zdrowiu

Warszawski Uniwersytet Medyczny

Recenzja rozprawy doktorskiej lek. Józefiny Rawskiej pt. „Znaczenie genów: SLC6A4 i NPY w etiologii zaburzeń depresyjnych”.

Zaburzenia depresyjne należą do jednych z najczęściej diagnozowanych spośród chorób psychicznych jednostek chorobowych. Depresja jest objawem, który często współwystępuje i towarzyszy innym schorzeniom. Liczba osób ze zdiagnozowanymi i leczonymi zaburzeniami depresyjnymi od kilkunastu lat wzrasta nie tylko w Polsce, ale także w prawie wszystkich rozwiniętych krajach Europy. Wzrost ilości zachorowań jest wyraźny i postępujący. Zaburzenia afektywne skutkują poważnymi następstwami dla jednostki i społeczeństwa, dlatego stanowią bardzo ważny problem medyczny i społeczny.

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

Całość rozprawy liczy 165 stron, 38 tabel, 24 wykresy, 14 rycin, 160 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 współchorobowości somatycznej 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 było poznanie znaczenia wybranych genów: SLC6A4 i NPY w etiologii zaburzeń depresyjnych.

Szczegółowe cele pracy były następujące:

1. Ocena ekspresji na poziomie mRNA i na poziomie białka dla genów SLC6A4 i NPY u osób w grupie badanej z zaburzeniami depresyjnymi bez chorób somatycznych, w grupie badanej z zaburzeniami depresyjnymi i towarzyszącymi chorobami somatycznymi i w grupie kontrolnej.
2. Ocena danych socjodemograficznych i medycznych oraz ocenianych parametrów biochemicznych dla genów SLC6A4 i NPY w grupie osób zdrowych, w grupie osób z zaburzeniami depresyjnymi bez chorób somatycznych i w grupie osób z zaburzeniami depresyjnymi z chorobami somatycznymi.

Zgodę na przeprowadzenie badania wyraziła Komisja Bioetyczna przy Uniwersytecie Medycznym w Łodzi: zgoda numer: RNN/136/18/KE z dnia 15 maja 2018 roku (załącznik 1).

Badanie zostało przeprowadzone w Klinice Psychiatrii Dorosłych Uniwersytetu Medycznego w Łodzi oraz w Wojewódzkim Szpitalu dla Nerwowo i Psychicznie Chorych im. dr Józefa Bednarza w Świeciu. Badanie zostało przeprowadzone na grupie łącznie 184 osoby, w wieku 18-65 lat, będących rodowitymi, niespokrewnionymi Polakami. Pacjenci otrzymywali farmakologiczne leczenie przeciwdepresyjne, zgodnie ze zleceniami lekarzy leczących. Udział w badaniu nie wiązał się ze zmianą prowadzonego leczenia.

Od każdej z osób biorących udział w badaniu została pobrana krew żylna dwukrotnie, w dniu włączenia do badania oraz po uzyskaniu odpowiedzi na leczenie (w łącznej objętości 10 ml). Próbkówka na wykrzepianie została zamrożona w temperaturze – 20°C. Próbkówka z EDTA została odwirowana w parametrach 1500 x g przez 10 minut w temperaturze 4°C - osocze i osad zostały zebrane do osobnych próbek typu Eppendorf o pojemności 2 ml i zamrożone w temperaturze – 20°C. Parametry wirówki laboratoryjnej były następujące - model MPW-351R, rok produkcji 2009.

Materiał został opracowywany w Katedrze i Zakładzie Biochemii Medycznej Uniwersytetu Medycznego w Łodzi. DNA zostało wyizolowane z krwi pełnej. Pobrana krew posłużyła do badania oceny ekspresji na poziomie mRNA i na poziomie białka dla analizowanych genów. Dokonano izolacji całkowitego RNA oraz analizę jakości wyizolowanego RNA. Do oceny ekspresji genów na poziomie mRNA wykorzystano metodę odwrotnej transkrypcji RT-PCR oraz reakcję Real-Time PCR; do oceny ekspresji genów na poziomie białka i oceny stężenia białka wykorzystano test immunoenzymatyczny (ELISA).

Stan psychiczny w grupach badanych oceniany był na podstawie skali Hamiltona, w dniu włączenia do badania oraz w dniu zakończenia badania, po uzyskaniu odpowiedzi na leczenie lekami przeciwdepresyjnymi (średnio po 8-10 tygodniach terapii).

Osoby z grup badanych poproszono o wypełnienie ankiety. Oceniano wiek, miejsce zamieszkania, wykształcenie, wcześniejsze leczenie psychiatryczne, rozpoznanie choroby psychicznej, liczba przebytych epizodów choroby, obecność schorzeń somatycznych. Osoby badane podzielono na dwie grupy eksperymentalne (grupa I i II). Trzecią grupę stanowi grupa kontrolna.

Uzyskane wyniki posłużyły do oceny znaczenia polimorfizmu i ekspresji badanych genów SLC6A4 i NPY w etiologii zaburzeń depresyjnych, co może przyczynić się do poszerzenia wiedzy na temat etiopatogenezy tych zaburzeń oraz do jej wykorzystania w wyłonieniu grup ryzyka oraz opracowania potencjalnych nowych metod terapeutycznych.

Grupy badane obejmowały pacjentów:

Grupa badana I (eksperymentalna I): osoby z rozpoznaniem epizodu depresyjnego (według ICD: 10 F32), zaburzeń depresyjnych nawracających (według ICD: 10 F33) oraz organicznych zaburzeń depresyjnych (według ICD 10: F06.32), leczeni standardową farmakoterapią przeciwdepresyjną (68 osób).

Grupa badana II (eksperymentalna II): osoby z rozpoznaniem epizodu depresyjnego (według ICD 10: F32), zaburzeń depresyjnych nawracających (według ICD 10: F33) oraz organicznych zaburzeń depresyjnych (według ICD 10: F06.32), z towarzyszącymi chorobami somatycznymi, leczeni standardową farmakoterapią przeciwdepresyjną w połączeniu z dotychczas stosowanym celowanym leczeniem schorzeń somatycznych (67osób).

Kryterium wykluczające w powyższych grupach stanowią choroby nowotworowe, poważne choroby neurologiczne, uszkodzenia ośrodkowego układu nerwowego, które mogły mieć wpływ na funkcjonowanie poznawcze osób badanych.

Grupa badana III (kontrolna): osoby zdrowe, z negatywnym wywiadem w kierunku chorób psychicznych (ocena na podstawie badania lekarskiego) (49 osób).

Dodatkowo zbierano dane socjodemograficzne na podstawie autorskiego kwestionariusza. Opracowanie statystyczne i graficzne wykonano używając programu Statistica 13. 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 wykazano, iż ekspresja analizowanych genów na poziomie mRNA i na poziomie białka dla genów SLC6A4 i NPY ma istotne znaczenie w etiologii zaburzeń depresyjnych.

Na koniec autorka przedstawia dyskusję uzyskanych wyników.

Na podstawie analizy wyników badania sformułowano następujące wnioski:

1. Ekspresja genów SLC6A4 i NPY ma istotne znaczenie w patofizjologii zaburzeń depresyjnych, w szczególności:
 - a. Ekspresja genu SLC6A4 jest wyższa w obu grupach badanych z depresją w porównaniu z grupą osób zdrowych.
 - b. Ekspresja genu NPY jest niższa w obu grupach badanych z depresją w porównaniu z grupą osób zdrowych.
2. Ekspresja genu SLC6A4 na poziomie mRNA u osób z depresją ze współistniejącymi zaburzeniami somatycznymi jest zależna od płci.
3. Nasilenie epizodu depresji nie wpływa w sposób istotny na ekspresję genów SLC6A4 i NPY.
4. Wiek, wykształcenie, liczba epizodów dla genów SLC6A4 i NPY nie wpływa istotnie statystycznie na ekspresję genów zarówno na poziomie mRNA jak i na poziomie białka.

Należałoby opisać i przedyskutować szerzej ograniczenia wyników – m.in. istotne statystycznie różnice w zakresie płci, wieku i wykształcenia obserwowane w badanych grupach. 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, wniosek pierwszy jest bardziej ogólny, warto byłoby dodać wyjaśnienie, w jaki sposób opisane wyniki wpływają na patofizjologię 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. 84, tab. 19 (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. Józefiny Rawskiej ujawnia niezwykle ciekawe aspekty dotyczące patofizjologii depresji.

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. Józefiny Rawskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

KIEROWNIK
Kliniki Psychiatrycznej
Wydziału Nauki o Zdrowiu

prof. dr hab. Agata Szulc
Prof. dr hab. Agata Szulc