

Dr hab. n. med. Izabela Zawlik, prof. UR
Zakład Genetyki Ogólnej
Instytut Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej
Wydział Medyczny
Uniwersytet Rzeszowski

Rzeszów, 09.07.2019

Recenzja rozprawy doktorskiej mgr Pauliny Misztak pt.: „Rola czynnika transkrypcyjnego MeCP2 w depresji”

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska Pani mgr Pauliny Misztak pt.: „Rola czynnika transkrypcyjnego MeCP2 w depresji” została przygotowana pod kierunkiem Pana Prof. dr. hab. Gabriela Nowaka oraz Pani Dr Magdaleny Sowy-Kućmy pełniącej rolę promotora pomocniczego. Praca doktorska została przygotowana w Katedrze Farmakobiologii na Wydziale Farmaceutycznym Uniwersytetu Jagiellońskiego - Collegium Medicum. Praca doktorska dotyczy określenia roli MeCP2 w patomechanizmie oraz farmakoterapii zaburzeń depresyjnych. Temat podjęty w pracy doktorskiej ma ogromne znaczenie w określeniu roli czynników epigenetycznych związanych z oddziaływaniem środowiska w mechanizmie rozwoju depresji oraz ich wpływu na farmakoterapię depresji.

Praca doktorska została wydana w formie oprawionego maszynopisu liczącego 127 stron. Praca ma typowy układ stosowany w rozprawach doktorskich z podziałem na rozdziały: wstęp, cel pracy, materiał i metody, wyniki, dyskusja, posumowanie, wykaz skrótów, streszczenie (w języku polskim i angielskim), spis rycin, spis tabel oraz bibliografię. Praca zawiera 24 ryciny i 20 tabel obrazujących w większości uzyskane w ramach realizacji pracy doktorskiej wyniki. Bibliografia obejmuje 195 pozycji literatury anglojęzycznej pochodzącej głównie z ostatnich kilku lat. W tym miejscu należy zauważyć, że w pracy nie zawsze zachowano prawidłowe zasady pisowni nazw genów oraz zasady pisowni dla analizowanych microRNA. W pracy występują również drobne błędy polegające np.: na wpisaniu na str. 27 nieprawidłowej liczby osób stanowiących kontrolę – wpisano osiem osób, a z Tabeli nr 2 oraz późniejszych informacji wynika, że kontrolę stanowi sześć osób, czy wpisaniu na str. 86 „Mature BDNF” zamiast „Dojrzały BDNF”. Jednakże, błędy te nie zmniejszają wysokiego poziomu merytorycznego przedstawionej do oceny pracy doktorskiej.

Rozprawa doktorska napisana jest w zwartym i syntetycznym stylu. Wstęp pracy jest podzielony na trzy podrozdziały. W pierwszym podrozdziale Wstępu opisano teorie rozwoju depresji oraz farmakoterapię stosowaną w depresji. W drugim podrozdziale Wstępu przedstawiono opis mechanizmów epigenetycznych oraz ich rolę w patofizjologii depresji i odpowiedzi na leki. W trzecim podrozdziale Wstępu opisano rolę MeCP2 w modyfikacjach epigenetycznych oraz w chorobach o podłożu neurologicznym. W pracy założono, że MeCP2 może mieć istotne znaczenie w patomechanizmie chorób psychicznych, w tym depresji. Cele pracy zostały precyzyjnie przedstawione w pięciu punktach i poprawność ich sformułowania nie budzi wątpliwości. Wszystkie etapy badawcze zostały prawidłowo zaprojektowane i zrealizowane w kontekście spełnienia założonych celów pracy doktorskiej. Dobór modeli i metod badawczych został przeprowadzony w prawidłowy sposób. W pracy wykorzystano tkanki mózgu pobrane *post mortem* od osób, które popełniły samobójstwo oraz dwa następujące zwierzęce modele depresji: przewlekły łagodny stres (CMS) i usunięcie opuszek węchowych (OB) z zastosowaniem 4 związków/leków o różnych mechanizmach działania. Zastosowane w pracy metody zostały dobrze opisane. Jedyne zastrzeżenie budzi w tym miejscu zbyt ogólny opis sposobu określenia relatywnej ekspresji genów i microRNA z zastosowaniem metody Real-Time PCR. W pracy doktorskiej na str. 37 wspomniano tylko, że cyt.: „ ΔC_t dla każdej próbki, a następnie $2^{-\Delta C_t}$ uzyskano poprzez porównanie wartości badanych do genów referencyjnych”. Metoda określenia relatywnej ekspresji powinna być opisana w pracy doktorskiej w bardziej szczegółowy sposób. Zastosowane metody analizy statystycznej są adekwatne dla rozwiązania problemów badawczych. Uzyskane wyniki zostały zaprezentowane w uporządkowany sposób, a właściwie dobrane tabele i wykresy ułatwiają analizę wyników. Wykazano liczne zmiany w regulacji epigenetycznej u zwierząt z zaindukowanymi objawami depresji (CMS, OB) oraz u ludzi, którzy popełnili samobójstwo. Ponadto wykazano, że stosowanie leków przeciwdepresyjnych w modelu zwierzęcym wpływało na normalizację niektórych zmian wywołanych czynnikami środowiskowymi. Do najważniejszych uzyskanych wyników należy wykazanie, że zarówno u osób, które popełniły samobójstwo jak i u szczurów z usuniętymi opuszkami węchowymi zaobserwowano wzrost poziomu MeCP2 oraz HDAC2 przy spadku acetylacji histonu 3 na lizynie 9/14 i białka BDNF. Dodatkowo w modelu CMS wykazano spadek poziomu acetylacji histonu 3 na lizynie 9/14 i białka BDNF przy braku zmian w poziomie białka MeCP2. Ponadto wykazano,

że czynniki epigenetyczne, a w szczególności acetylacja histonu H3, odgrywają istotną rolę w mechanizmie rozwoju depresji.

Dyskusja jest napisana w sposób rzeczowy i wnikliwy. Wyniki uzyskane w ramach realizacji pracy doktorskiej zostały skonfrontowane z najnowszymi wynikami opublikowanych badań o podobnej tematyce. Dyskusja w pełni ukazuje bardzo dobre zorientowanie mgr Pauliny Misztak w aktualnej literaturze dotyczącej roli MeCP2 w patomechanizmie oraz farmakoterapii zaburzeń depresyjnych. Na podstawie uzyskanych wyników sformułowano wnioski końcowe stanowiące, że czynniki epigenetyczne mają istotne znaczenie zarówno w patofizjologii jak i terapii zaburzeń depresyjnych. W pracy wykazano w modelu usunięcia opuszek węchowych oraz u samobójców w korze czołowej podobny profil zmian epigenetycznych, co świadczy o kompatybilności tego modelu z zachowaniami samobójczymi. Natomiast model CMS oparty na łagodnym stresie nie warunkował znaczących zmian epigenetycznych, co sugeruje iż stosowany w badaniach łagodny stres nie wpływa na epigenom. Wnioski zostały prawidłowo sformułowane w oparciu o omówione wyniki i nie budzą żadnych zastrzeżeń.

Wnioski Końcowe

Prezentowana praca doktorska wskazuje na bardzo dobre przygotowanie teoretyczne Autorki oraz opanowanie przez nią warsztatu badawczego. Wysoko oceniam wartość naukową przedstawionej pracy doktorskiej, a uwagi przedstawione w recenzji nie umniejszają mojej wysokiej oceny tej pracy. Praca doktorska pt.: „Rola czynnika transkrypcyjnego MeCP2 w depresji” w pełni spełnia wszystkie wymagania stawiane rozprawom doktorskim dlatego wnoszę do Rady Wydziału Farmaceutycznego UJ CM o dopuszczenie Pani mgr Pauliny Misztak do dalszych etapów przewodu doktorskiego.



Dr hab. n. med. Izabela Zawlik, prof. UR