



Kraków 20.02.2020 r

Ocena

rozprawy doktorskiej **Pani mgr Gabrieli Starowicz**, doktorantki Katedry Farmakobiologii

Wydziału Farmaceutycznego UJ CM w Krakowie

pt. „**Wpływ modulacji receptora cynkowego GPR39 na transmisję glutaminianergiczną i gabaergiczną**”

Badania ostatnich lat wskazują na zaangażowanie receptora cynkowego GPR39 w etiologię depresji jak również w mechanizm działania leków przeciwdepresyjnych. Nie wyjaśniono jednak w pełni mechanizmów odpowiedzialnych za ten efekt. Biorąc pod uwagę opublikowane dane z literatury przedmiotu, wybór celu rozprawy: ocena wpływu modulacji receptora cynkowego GPR39 na transmisję glutaminianergiczną i gabaergiczną jest jak najbardziej uzasadniony.

Przedstawiona do oceny rozprawa obejmuje 121 stron, 49 rycin, 4 tabele. Posiada następujący układ edytorski: Wykaz najważniejszych skrótów (2 strony), Wprowadzenie (19 stron), Cel pracy (1 strona), Materiały i metody (5 stron), Wyniki (42 strony), Dyskusja (11 stron), Podsumowanie (1 strona), Wnioski (1 strona), Streszczenie w języku polskim i angielskim (2 strony), Piśmiennictwo (194 strony), Spis rycin i tabel (8 stron).

Celem uniknięcia powtarzania informacji zawartych w rozprawie, które Doktorantka z pewnością przedstawi w trakcie obrony, moja recenzja skupi się tylko na pozytywnych oraz negatywnych aspektach rozprawy.

Pozytywnie oceniam część stanowiącą wprowadzenie do rozprawy, w którym Doktorantka szczegółowo przedstawiła wiadomości dotyczące budowy i funkcji układów glutaminianergicznego i gabaergicznego, fizjologicznej roli cynku w OUN oraz roli cynku w patofizjologii zaburzeń nastroju. Sposób przedstawiania dostępnych danych z literatury przedmiotu świadczy o bardzo dobrym przygotowaniu teoretycznym Doktorantki.

Zaplanowane w pracy cele Doktorantka zrealizowała badając efekty łączonych podań specyficznego agonisty receptora GPR39 związku TC-G 1008 oraz wybranych ligandów receptorów: NMDA, AMPA, GABA_A, GABA_B w teście wymuszonego pływania, teście zawieszenia za ogon, teście aktywności lokomotorycznej oraz eksperymentalnym modelu deficytu cynku u myszy.



Określono ponadto zmiany w ekspresji białek GABA_Aα1, GABA_Aβ2, GABA_BR1, GluN1, GluN2A, GluN2B, PSD95 i KCC2 po chronicznych podaniach TC-G 1008 u myszy u których zastosowano dietę o obniżonej zawartości cynku.

Metody wybrane do weryfikacji założonych celów zostały opisane poprawnie i szczegółowo. Jedynie w opisie testów dawko-zależności brakuje informacji w jakim czasie przed podaniem TC-G 1008 podawano NBQX oraz pikrotoksynę. Natomiast przy opisie testu jasnej/ciemnej skrzynki warto byłoby zaznaczyć, że test ten został również wykorzystany do oceny spontanicznej aktywności lokomotorycznej podawanych związków. Samo wykonanie doświadczeń nie budzi zastrzeżeń.

Z obowiązku recenzenta chciałabym zwrócić uwagę na pewne niedociągnięcia i drobne błędy redakcyjne w części rozprawy zatytułowanej „Wyniki”:

- a) W rozdziale 1, 2 i 3 przedstawiono grupy eksperymentalne, przy czym grupa 1 została opisana jako 1% Tween, podczas gdy w opisie do ryciny 3 oraz tabeli obrazującej wyniki opisano znamienności statystyczne vs NaCl.
- b) W legendzie do rycin 3, 4 oraz tabeli 1 brak opisu wykorzystanych do analizy testów post-hoc.
- c) Tabela umieszczona na str. 38 powinna być oznaczona jako „Tab. 3” a nie Tab. 1,
- d) W rozdziale 4 przedstawione zostały wyniki testów dawko-zależności, przy czym wyniki przedstawione na ryc. 5 i 7 analizowano testem ANOVA oraz testem Dunnet’a natomiast wyniki przedstawione na rycinach 6, 8 i 9 testem Kruskal’a-Wallis’a. Brak jest w tekście wyjaśnienia różnic w doborze testów statystycznych.
- e) Rozdział 5; Ryc. 14-29. W legendzie do rycin podano, iż otrzymane wyniki analizowano testem dwuczynnikowej ANOVA oraz testem Dunnet’a, który służy do porównywania kilku grup eksperymentalnych z jedną grupą kontrolną. W przypadku łączonych podań bardziej uzasadnione byłoby zastosowanie np. testu Tukey’a, który wykonuje porównania pomiędzy wszystkimi grupami.
- f) W niektórych eksperymentach podań łączonych związków wykorzystano dawkę 10mg/kg związku TC-G 1008 jako dawkę nie działającą, przy czym dawka ta nie była testowana w badaniach dawko-zależności. Brak w tekście uzasadnienia wyboru tej właśnie dawki.
- g) Na ryc. 22 przedstawiono wpływ pojedynczych i łącznych podań związków TC-G 1008 i NMDA na aktywność lokomotoryczną myszy. Nie zaobserwowano zmian w aktywności po podaniu samego związku TC-G 1008 w dawce 15 mg/kg podczas gdy ta sama dawka w przypadku eksperymentu z łącznych podań TC-G 1008 i NBQX istotnie zmniejszyła aktywność lokomotoryczną (ryc. 24). Podobne rozbieżności (brak efektu lub osłabienie aktywności lokomotorycznej) występują w przypadku dawki 10 mg/kg tego związku.



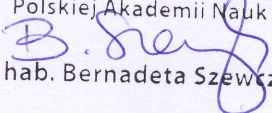
Pozytywnie oceniam rozdział zatytułowany „Dyskusja”. Doktorantka umiejętnie skonfrontowała własne osiągnięcia z danymi dostępnymi w literaturze przedmiotu. Dyskusja jest zwięzła, merytoryczna i wskazuje na umiejętność Doktorantki w przedstawianiu własnych przemyśleń. Pojawiły się nieliczne błędy. Na str. 78 Doktorantka wspomina, iż zaobserwowano „skrócenie całkowitego przebytego dystansu po podaniu TC-G 1008 w dawce 15 mg/kg” przy czym wyniki zawarte w tabeli wyników (str. 38) wskazują, iż wszystkie dawki (5, 15 i 30 mg/kg) TC-G 1008 znacząco skróciły całkowity przebyty dystans. Ponadto pojawiła się błędna numeracja tabeli (tabela stanowiąca podsumowanie wyników behawioralnych na str. 82 to tabela nr 4 a nie 3). W rozdziale 6 nie przedyskutowano braku efektu deficytu cynku w wywoływaniu zachowań prodepresyjnych. W rozdziale 7 brak wyjaśnienia, dlaczego do badań biochemicznych wybrano układ badawczy: 6 tygodniowa dieta i chroniczne podania związku.

W podsumowaniu Doktorantka przejrzyście przedstawiła najważniejsze osiągnięcia pracy. Wnioski końcowe zostały poprawnie sformułowane.

Podsumowując, pragnę podkreślić, iż przedstawione w opisie poszczególnych rozdziałów uwagi nie wpływają na moją całościową pozytywną ocenę pracy.

W mojej opinii rozprawa doktorska zatytułowana „Wpływ modulacji receptora cynkowego GPR39 na transmisję glutaminianergiczną i gabaergiczną” w pełni odpowiada wymaganiom stawianym pracom doktorskim, dlatego przedkładam Radzie Dyscypliny Nauki farmaceutyczne UJ wniosek o dopuszczenie Pani mgr Gabrieli Starowicz do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Kierownik Pracowni Neurobiologii
Pierwiastków Śladowych
Instytut Farmakologii im. Jerzego Maja
Polskiej Akademii Nauk


Dr hab. Bernadeta Szewczyk