

O C E N A

pracy doktorskiej mgr GABRIELI STAROWICZ pt. *Wpływ modulacji receptora cynkowego GPR39 na transmisję glutaminianergiczną i gabaergiczną*

Depresja jest jednym z najczęściej występujących zaburzeń psychicznych, a zapadalność na nią stale wzrasta. Przewiduje się, że w ciągu kolejnych 10 lat zajmie ona na liście chorób pierwsze miejsce pod względem wskaźnika lat życia utraconych z powodu przedwczesnej śmierci lub uszczerbku na zdrowiu. Niewątpliwie patogeneza depresji jest złożona, a jej pełniejsze wyjaśnienie z pewnością przyczyni się do opracowania nowych leków przeciwdepresyjnych, które są potrzebne biorąc pod uwagę wciąż niezadowalającą skuteczność tych obecnie dostępnych. Badanie układów innych niż układy monoaminergiczne może doprowadzić do odkrycia nowych strategii terapeutycznych, a w dalszej perspektywie do wprowadzenia do leczenia substancji o odmiennych mechanizmach działania od stosowanych dotychczas, co z kolei może przełożyć się na zwiększenie skuteczności leczenia.

Tym zagadnieniom poświęcona jest rozprawa doktorska mgr Gabrieli Starowicz, której przedmiot stanowią badania nad wpływem receptora cynkowego GPR39 na transmisję glutaminianergiczną i gabaergiczną w aspekcie depresji przy wykorzystaniu zwierzęcych modeli tego schorzenia. Oceniana rozprawa doktorska została wykonana w Katedrze Farmakobiologii Wydziału Farmaceutycznego Uniwersytetu Jagiellońskiego Collegium Medicum w Krakowie pod kierunkiem dr hab. Katarzyny Młyniec.

Praca doktorska ma tradycyjny układ, liczy łącznie 121 stron oprawionego wydruku komputerowego formatu A4. Składa się z obszernego wstępu, celu pracy, ze zwięzłego opisu zastosowanych w pracy metod, prezentacji uzyskanych wyników oraz ich omówienia. Rozprawę wieńczy wykaz nienumerowanego, bezbłędnie cytowanego piśmiennictwa w liczbie 196 pozycji. Do pracy zostało dołączone krótkie streszczenie w języku polskim i angielskim, wykaz najważniejszych skrótów oraz spis rycin i tabel (w spisie rycin i tabel

wystarczyło podać ich tytuły, pełne legendy są zbędne). Praca została przedstawiona w sposób bardzo staranny, jej strona graficzna jest bez zarzutu.

Autorka rozpoczyna pracę 19-stronicowym wstępem, wykazując doskonałą znajomość bieżącego i starszego piśmiennictwa. W pierwszych dwóch podrozdziałach Doktorantka szczegółowo scharakteryzowała układ glutaminianergiczny i gabaergiczny, omawiając syntezę i metabolizm neuroprzekaźników oraz przedstawiając podział receptorów, ich budowę molekularną i pełnione funkcje. Kolejny podrozdział wstępu poświęcony został omówieniu roli układu glutaminianergicznego i gabaergicznego w wybranych zaburzeniach psychicznych, przede wszystkim w depresji, zaburzeniach lękowych, PTSD i schizofrenii. W następnym podrozdziale wstępu Autorka omówiła znaczenie cynku w funkcjonowaniu układu nerwowego oraz rolę cynku w patogenezie i terapii zaburzeń depresyjnych, przytaczając dane sugerujące, że niedobór cynku może prowadzić do powstawania zaburzeń depresyjnych a suplementowanie cynkiem może zwiększyć skuteczność terapii. Ostatni podrozdział wstępu, zgodnie z tematem dysertacji, Doktorantka poświęciła na szczegółowe przedstawienie aktualnej wiedzy na temat budowy i funkcji receptora GPR39. Cały wstęp napisany jest przejrzysto i kompetentnie, a jego podział na liczne podrozdziały oraz zamieszczenie dwóch schematów znacznie ułatwia lekturę. Jako uwagę krytyczną mogę wymienić brak omówienia znaczenia cynku w przekazywaniu gabaergicznym.

Cel pracy został wyraźnie sformułowany. Obejmuje on ocenę interakcji pomiędzy receptorem cynkowym GPR39 a układem glutaminianergicznym i gabaergicznym w wybranych testach behawioralnych.

Materiały i metody opisano na 5 stronach. Wszystkie procedury eksperymentalne wykonywane na zwierzętach w tej pracy uzyskały pozytywną opinię II Lokalnej Komisji Etycznej Do Spraw Doświadczeń Na Zwierzętach w Krakowie (nie podano numerów uchwał). Prawidłowo dobrano substancje narzędziowe, będące agonistami i antagonistami badanych układów neuroprzekaźnikowych. Aktywność przeciwdepresyjną Doktorantka badała w teście wymuszonego pływania i testu zawieszenia za ogon, natomiast działanie przeciwlękowe oceniała przy wykorzystaniu testu jasnej/ciemnej skrzynki. Testy te są wiarygodne i powszechnie wykorzystywane w farmakologii eksperymentalnej. Oznaczenia ekspresji białek wykonała stosując Western Blot.

Uwagi:

- Str. 31: Myszy albino Swiss to stado, a nie szczep.



- Str. 31: W opisie warunków, w których przebywały zwierzęta, prawdopodobnie wkradł się błąd literowy, zamiast $50 \pm 10\%$ powinno być $55 \pm 10\%$, ponieważ taki zakres wilgotności względnej powietrza narzuca odpowiednie rozporządzenie.

- Str. 33: Zbyt lakonicznie opisano stosowane metody behawioralne, zabrakło mi choćby krótkiego wyjaśnienia, po co przeprowadza się dany test i jak należy interpretować wyniki w nim uzyskane.

- Brak opisu zastosowanych metod statystycznych

- Badania behawioralne, zwłaszcza te, w których pomiar parametrów nie odbywa się w sposób zautomatyzowany, powinny być prowadzone tak, aby osoba wykonująca dany test nie знаła zamierzeń osoby projektującej doświadczenie. Takiej informacji nie znalazłem w pracy. Rozdział Wyniki zajmuje 42 strony. 47 dobrze skonstruowanych i wyczerpująco opisanych rycin oraz 2 tabele rozmieszczono w sposób wygodny dla czytelnika w odpowiednich fragmentach tekstu. Doktorantka wykazała, że TC-G 1008, agonista receptora GPR39 wywoływał efekt przeciwdepresyjny w teście wymuszonego pływania u myszy i efekt ten był blokowany przez podanie NMDA, ale nie był nasilany przez podanie antagonisty receptora NMDA, CGP 37849. Efekt przeciwdepresyjny TC-G 1008 blokowało podanie pikrotoksyny, natomiast muscimol nie wpływał istotnie na działanie TC-G 1008 w teście wymuszonego pływania. Podania łączne TC-G 1008 z ligandami receptora GABA_B nie wywoływały synergistycznego efektu w teście wymuszonego pływania. Ligandy receptora AMPA nie wpływały na przeciwdepresyjne działanie TC-G 1008. TC-G 1008 nie wywoływał efektu przeciwdepresyjnego po jednorazowym podaniu ani w grupie zwierząt karmionych dietą o obniżonej zawartości cynku przez okres 4 tygodni, ani u zwierząt karmionych karmą kontrolną lub karmą o obniżonej zawartości cynku przez 6 tygodni. Wykazała również, że podania TC-G 1008 nie wywołują zmian adaptacyjnych podjednostki GluN1 wynikających z odpowiedzi na obniżoną podaż cynku, zaś poziom cynku w diecie miał istotny wpływ na różnice w poziomie białek PSD95 i KCC2 u zwierząt, które chronicznie otrzymywały TC-G 1008.

Do tej części mam kilka następujących uwag:

- Wiadomo, że zwierzęta niezbyt dobrze znoszą dietę niskocynkową. Brakuje mi w pracy tabeli pokazującej masę ciała zwierząt w poszczególnych grupach w trakcie stosowania diety zwykłej i niskocynkowej. Czy obserwowano negatywny wpływ diety niskocynkowej na ogólny stan zdrowotny zwierząt?



- Dlaczego nie oceniono poziomu cynku w mózgu i surowicy po stosowaniu diety niskocynkowej, w celu potwierdzenia deficytu tego pierwiastka?

Praca doktorska zawiera bardzo dobrze napisaną dyskusję liczącą 11 stron, przejrzyste omawiającą i konfrontującą uzyskane przez Doktorantkę wyniki z wynikami badań innych autorów.

Wnioski końcowe w liczbie pięciu są logiczne i bezpośrednio wynikają z przeprowadzonych doświadczeń, choć w moim odczuciu nieco zbyt ogólne. Dobrym pomysłem było zamieszczenie przed Wnioskami części Podsumowanie, syntetycznie omawiającej uzyskane wyniki, co pozwoliło na uniknięcie streszczania wyników we wnioskach.

Pracę oceniam jak najbardziej pozytywnie. Doktorantka wybrała interesujący i aktualny temat, poprawnie zaplanowała badania, zastosowała właściwe metody, a uzyskane wyniki pozwoliły Jej wysnuć poprawne wnioski, które oprócz znaczenia poznawczego mogą mieć również implikacje praktyczne. Poczynione w recenzji uwagi krytyczne nie mają istotnego wpływu na wyżej wspomnianą, wysoce pozytywną ocenę pracy.

Podsumowując, przedstawiona do oceny rozprawa doktorska mgr Gabrieli Starowicz pt. „*Wpływ modulacji receptora cynkowego GPR39 na transmisję glutaminianergiczną i gabaergiczną*” została bardzo dobrze zaplanowana i zrealizowana pod względem metodycznym, a wnioski sformułowane na podstawie uzyskanych wyników stanowią istotny wkład Doktorantki do poszerzenia istniejącej wiedzy na temat złożonych interakcji pomiędzy receptorem cynkowym a podstawowymi układami neuroprzekaźnikowymi w patomechanizmie i farmakoterapii depresji. Z pełnym przekonaniem uważam, że rozprawa ta spełnia wymagania stawiane pracom doktorskim w myśl ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym, oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U. Nr 65, poz. 595 z późn. zm.). Zwracam się zatem do Wysokiej Rady o dopuszczenie mgr Gabrieli Starowicz do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Lublin 28 marca 2020 r.

Kierownik Katedry

Prof. dr hab. Piotr Wlaź

