



UNIwersytet Medyczny w Lublinie
Wydział Farmaceutyczny
Katedra i Zakład Farmakologii z Farmakodynamiką
ul. Chodźki 4A (Collegium Pharmaceuticum), 20-093 Lublin
tel. (081) 448 7250

Lublin, dnia 7 września 2021 roku

O C E N A

pracy doktorskiej Pani EWELINY KONDZIELNIK pt. „Zmiany adaptacyjne receptorów mGluR5 wywołane lekami przeciwdepresyjnymi”

Depresja jest obecnie jednym z najczęściej występujących schorzeń psychicznych. Według Światowej Organizacji Zdrowia cierpi na nią ponad 350 milionów ludzi na świecie; choroba występuje u pacjentów w każdym wieku - dotyka dzieci, młodzież i dorosłych, chorują kobiety i mężczyźni. Już Paracelsus nazywał chorych „niewolnikami smutku”, William Styron określał ją jako „ciemność widomą”, a Antoni Kępiński, polski psychiatra i autor wielu podręczników pisał, że „czas depresji jest złym czasem, od którego chciałoby się uciec, ale nie ma gdzie; chory jest w nim zamknięty, przygnieciony przeszłością, terażniejszością i bez perspektyw przyszłości. W czasie tym niewiele się dzieje; przeżycia monotonnie obracają się koło tych samych wątków: beznadziejności, poczucia winy, lęku przed katastrofą”.

W Polsce z depresją zmagają się blisko dwa miliony ludzi, co stanowi 5,1% naszego społeczeństwa. Zaburzenia depresyjne, szczególnie charakteryzujące się wysokim poziomem lęku, prowadzą też często do myśli i prób samobójczych, stąd choroba uznawana jest za śmiertelną. Ponadto patomechanizm zaburzeń depresyjnych jest bardzo skomplikowany i nadal nie do końca wyjaśniony. Wiadomo, że depresja jest heterogenną chorobą wywoływaną przez wiele czynników i nadal nie dysponujemy wystarczająco skutecznymi i bezpiecznymi metodami jej leczenia, a stosowanie większości leków wymaga długiego czasu dla uzyskania widocznej poprawy stanu pacjenta. Spośród wielu hipotez powstawania depresji i teorii na temat działania leków przeciwdepresyjnych (LPD) jedną z najbardziej eksplorowanych w ostatnich latach jest hipoteza glutaminianergiczna.

Zagadnienia te stanowią przedmiot rozprawy doktorskiej **mgr Eweliny Kondzielnik**. Przedłożona do oceny praca została wykonana w Zakładzie Radioligandów Wydziału Farmaceutycznego Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie pod kierunkiem dr hab. Tadeusza Librowskiego, promotor pomocniczy dr n. farm. Agata Siwek.

Całość pracy stanowi 186 stron opracowanego wydruku komputerowego formatu A4. Składa się ona z 42-stronicowego wstępu, celu pracy przedstawionego na jednej stronie, z 7-stronicowego opisu metod badawczych i statystycznych zastosowanych w pracy oraz opisowej części uzyskanych wyników przedstawionej na 63 stronach. Ta część została zilustrowana 20 tabelami i aż 80 rycinami (!). Omówieniu wyników badań Autorka poświęciła 28 stron pracy, podsumowanie zawarto na trzech, a wnioski na dwóch stronach. Rozprawa zawiera imponujący wykaz cytowanego piśmiennictwa w liczbie 294 pozycji, ponumerowanych, ułożonych w kolejności pojawiania się w tekście. 265 pozycji piśmiennictwa (90%) to publikacje anglojęzyczne, 29 prac (10%) to publikacje w języku polskim. 98 prac (33.3%) pochodzi z ostatnich dziesięciu lat, a aż 37 publikacji (12.6 %) zostało wydanych pomiędzy rokiem 2019 a 2021. Do pracy zostało dołączone streszczenie w języku polskim oraz angielskim, wykaz zastosowanych skrótów i spis treści (umieszczone na początku pracy) oraz spis tabel i spis rycin (umieszczone na końcu). Struktura pracy i strona graficzna nie budzą zastrzeżeń.

Pragnę wyrazić uznanie dla tematyki ocenianej pracy, gdyż żywię nadzieję, że każda praca badawcza dotycząca problemu depresji przyczyni się do jej głębszego poznania i zwiększy możliwości terapii.

Autorka rozpoczyna pracę klasycznie, od wstępu. W tym rozdziale omawia depresję, podając jej charakterystykę ogólną, epidemiologię, neurobiologię oraz główne teorie dotyczące patofizjologii, po czym obszernie przedstawia budowę i rolę układu glutaminianergicznego, z podziałem na receptory jono- i metabotropowe, w tym ze szczególnym uwzględnieniem receptorów mGluR5, będących tytułowym celem badań. Następnie przybliży funkcjonowanie wewnątrzkomórkowych szlaków sygnałowych, podkreślając rolę badanych w pracy białek (PSD95, Homer1, SHANK3, synapsyna I, CaMK2, mTOT oraz BDNF). Wstęp został umiejętnie napisany, a przejrzysty podział na podrozdziały znacznie ułatwia lekturę.

Cel pracy został ambitnie postawiony jako próba pogłębienia istniejącej wiedzy na temat działania LPD poprzez określenie zmian adaptacyjnych w obrębie receptora mGluR5 pod wpływem przewlekłych podań LPD o różnych mechanizmach działania. Określenie roli wymienionych powyżej białek uważam za niezwykle, z poznawczego punktu widzenia, interesujące. Sformułowanie celu poprzedzone zostało przytoczeniem danych świadczących o zaangażowaniu układu glutaminianergicznego w etiologię depresji i mechanizm działania LPD.

Autorka przeprowadziła swoje eksperymenty z wykorzystaniem samców szczurów stada *Wistar*. Stosowane substancje podawane były zarówno jednorazowo jak i przewlekle. Do badań wybrano trzy LPD o różnych mechanizmach działania, tj. reboksetynę – selektywnego inhibitora wychwytu zwrotnego noradrenaliny, S-citalopram – selektywnego inhibitora wychwytu zwrotnego serotoniny oraz imipraminę, należącą do nieselektywnych inhibitorów wychwytu zwrotnego monoamin. Ponadto zastosowano enancjomer citalopramu – R-citalopram, który nie wykazuje działania przeciwdepresyjnego i haloperidol – klasyczny lek przeciwpsychotyczny – dla sprawdzenia czy obserwowane efekty są specyficzne dla LPD. Następnie na pobranych tkankach (były to dwie struktury mózgowe o udokumentowanej roli w depresji, tj. kora przedczołowa i hipokamp) przeprowadzono badania biochemiczne, mające na celu oznaczenie licznych białek wchodzących w skład szlaków sygnałowych. Posłużono się stosunkowo czułą i szybką metodą Western blot. Wszystkie procedury eksperymentalne wykonywane na zwierzętach uzyskały pozytywną opinię Lokalnej Komisji Etycznej ds. Doświadczeń Na Zwierzętach Uniwersytetu Jagiellońskiego i są w dysertacji wyczerpująco opisane. Metody statystyczne zostały dobrane prawidłowo.

Dokumentację pracy (wyniki) przedstawiono w sposób jasny i zrozumiały. Ryciny są czytelne, a tabelaryczne zestawienia zbiorcze ułatwiają recenzentowi śledzenie uzyskanych w pracy zmian oraz wskazują na duże zaangażowanie i wkład pracy Doktorantki.

Omówienie wyników (dyskusja) została podzielona na pięć działów tematycznych, zgodnie z wykonanymi badaniami, jest ciekawie poprowadzona, co świadczy o bardzo dobrym przygotowaniu teoretycznym Doktorantki. Cały rozdział dowodzi znajomości rozległego piśmiennictwa, umiejętności jego wykorzystania do oceny wyników własnych, a także czytelnej prezentacji jakże złożonej problematyki, gdzie występuje mnogość receptorów, podjednostek, różnych białek i szlaków sygnałowych.

Po dokładnym przeanalizowaniu i omówieniu wyników, Autorka podsumowuje najważniejsze rezultaty i formułuje siedem nadrzędnych wniosków.

Reasumując, pracę oceniam bardzo wysoko. Doktorantka wybrała ważny aktualny problem, zastosowała właściwe metody, a uzyskane wyniki pozwoliły Jej wysnuć poprawne wnioski, które oprócz znaczenia poznawczego mogą mieć również implikacje praktyczne.

Podczas czytania pracy nasunęły mi się następujące uwagi:

1. pisząc o klasyfikacji depresji, Autorka przywołuje obowiązujący w Polsce system ICD-10 oraz amerykański DSM-IV. Aktualnie obowiązującą, najnowszą wersją jest DSM-V;
2. stosując jednoczynnikową (lub dwuczynnikową) analizę wariancji, oprócz istotności statystycznej uzyskanej w testach następczych, powinno się podawać wartość F wraz ze stopniami swobody;

3. badania na zwierzętach prowadzi się w Polsce zgodnie z zapisami ustawy z dnia 15 stycznia 2015 r. o ochronie zwierząt wykorzystywanych do celów naukowych lub edukacyjnych (Dz. U. poz. 266) oraz dyrektywy Parlamentu Europejskiego i Rady 2010/63/EU z dnia 22 września 2010 r. w sprawie ochrony zwierząt wykorzystywanych do celów naukowych (Dz. Urz. UE L z dnia 20 października 2010 r. Nr 276, str. 33) – w pracy błędnie podano rok ustawy;
4. nie uzasadniono w pracy wielkości stosowanych dawek LPD i innych używanych substancji;
5. w poprawnie językowo napisanej pracy spotyka się jednak sporo błędów edytorskich (literowych, np. w treści Ryciny 7 czy Tabeli 3, i inne), uchybienia stylistyczne są pojedyncze, tych nie wymieniam, zaznaczyłam je na marginesie pracy:
 - tytułowe receptory mGluR5 bardzo często w toku całej pracy występują jako mGlu5
 - błędnie użyto wyrazu modulator – w języku polskim, liczba mnoga od modulator to modulatory (strona 23, Rycina 12; strona 41, Tabela 5),
 - w toku całej pracy powtarza się zwrot „i grupa receptorów metabotropowych mGluR” / „i grupa mGluR” zamiast I grupa receptorów metabotropowych / I grupa mGluR, co jest mylące, np. strona 31, linia 5; strona 33, linia 4,
 - powinno być synapsyna I, np. strona 30, linia 15,
 - nazwy obcojęzyczne powinny być pisane kursywą (co także nie zawsze jest praktykowane w pracy), np. „*post mortem*” strona 36, linia 18 i 20,
 - praca wydaje się być źle sformatowana – w bardzo wielu miejscach są dodatkowe spacje, np. strona 2, linia 14 i 15; str. 3, linia 10; strona 5, linia 1;
6. w pracy panuje nieporządek dotyczący stosowanych skrótów (brak konsekwencji stosowania). Każdy skrót powinien być wprowadzony przy pierwszym użyciu i następnie konsekwentnie stosowany, bez powtarzania całego rozwinięcia, np.:
 - strona 7, linia 6 zakręt zębaty hipokampa (DG ang. *dentate gyrus*), strona 8, linia 20 i strona 136, linia 22 – niepotrzebne kolejne wprowadzenia, Rycina 11 – różna pisownia);
 - na stronie 29 – pojawia się po raz pierwszy i ostatni skrót dla glutaminianu (?), na stronie 30 w linii 22 po raz pierwszy pojawia się białko określane skrótem PSD95, rozwinięcie tego skrótu znajduje się dopiero przy kolejnym użyciu – na tej samej stronie w linii 30;
7. w Tabeli 2. znajduje się niepoprawne sformułowanie: „zachowanie przeciwdepresyjne”, a w Tabeli 5. „efekt przeciwpsycholityczny”;
8. nie powinno się również spolszczać niektórych zwrotów anglojęzycznych, które posiadają swoje tłumaczenia w języku polskim (np. amygdala – jądro migdałowe, strona 41, Tabela 5.);

9. w pracy odnotowałam również brak konsekwencji w stosowaniu pewnych nazw, np. szlaków: serotoninergiczny (strona 4, linia 30)/serotoninowy (strona X); dopaminergiczny (strona 4, linia 30)/dopaminianergiczny (strona 7, linia 8)/dopaminowy (strona 16, linia 8); kynureninowy (strona 8, linia 3)/kynureinowy (strona 11, linia 8); związków: glukokortykosterydy (strona 6, linia 13)/glikokortykoidy (strona 6, Rycina 3);
10. na rycinach brak jest oznaczenia stosowanych dawek, podczas gdy ryciny stanowią odrębną całość, i powinny być czytelne bez wracania do tekstu pracy;
11. znalazłam liczne uchybienia/niekonsekwencje w zastosowanym sposobie podawania odniesień naukowych np. brak roku publikacji (np. poz. 168, 202, 278, 287), niewłaściwy skrót czasopisma (np. poz. 108), brak czasopisma (np. poz. 206), brak autorów (poz. 85), ten sam artykuł dwa razy (pozycja 287 i 293), brak konsekwencji w sposobie zapisu (poz 115), itd;

Powyższe uwagi krytyczne dotyczące treści pracy, czy też komentarze redakcyjne podaję z obowiązku recenzenta, jednak nie obniżają one wysokiej wartości merytorycznej ocenianej pracy. Z pełnym przekonaniem uważam, że rozprawa **mgr Eweliny Kondzielnik** pt. „Zmiany adaptacyjne receptorów mGluR5 wywołane lekami przeciwdepresyjnymi” w pełni odpowiada wymogom stawianym 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.

Zwracam się zatem do Wysokiej Rady Dyscypliny Nauki Farmaceutyczne Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie o dopuszczenie **mgr Eweliny Kondzielnik** do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

dr hab. n. farm. Ewa Kędzierska

Ewa Kędzierska

profesor UM