

Kielce, 24.08.2020

Dr hab. Michał Arabski, prof. UJK  
Zakład Biologii Medycznej  
Wydział Nauk Ścisłych i Przyrodniczych  
Uniwersytet Jan Kochanowskiego w Kielcach

## RECENZJA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

**mgr Pauliny Wigner**

*Rola stresu oksydacyjnego i nitracyjnego oraz szlaku katabolitów tryptofanu  
w patogenezie depresji*

Depresja jako szczególny rodzaj zaburzeń nastroju i emocji stanowi obecnie poważny problem zdrowotny o zasięgu światowym. Według Światowej Organizacji Zdrowia (WHO) jest jednym z najbardziej upośledzających zaburzeń na świecie i pociąga za sobą bardzo wysokie koszty społeczne. Poznanie podstaw molekularnych depresji jest zagadnieniem złożonym i trudnym biorąc pod uwagę wieloczynnikowy charakter tej choroby. Od około 10 lat obserwuje się szczególne zainteresowanie naukowców w poszukiwaniu podłoża zmian fizjologicznych towarzyszących depresji na poziomie genetycznym, epigenetycznym i proteomicznym. Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska w pełni wpisuje się w ten nurt interdyscyplinarnych badań. Jako jasno sprecyzowany cel główny stawia określenie roli stresu oksydacyjnego i nitracyjnego oraz szlaku katabolitów tryptofanu w patogenezie depresji. Rolę powyższych mechanizmów Pani mgr Paulina Wigner przeanalizowała zarówno pod kątem zmian genetycznych tj. polimorfizmów pojedynczego nukleotydu genów, jak również weryfikacji chronicznego łagodnego stresu i terapii wenlafaksyną na poziom ekspresji i stopień metylacji regionów promotorowych genów. Powyższe analizy dotyczyły genów kodujących enzymy zaangażowane w stres oksydacyjny tj. katalazy (CAT), peroksydazy glutationowej 1 i 4 (GPx1 i GPx4), dysmutazy ponadtlenkowej 1 i 2 (SOD1 i SOD2), w stres nitracyjny tj. syntetazy tlenu azotu 1 i 2 (NOS1 i NOS2) oraz szlak katabolitów tryptofanu: 2,3-dioksygenaza indoloaminowa (IDO1), 2,3-dioksygenaza tryptofanu (TDO2), hydroksylaza tryptofanu 1 i 2 (TPH1 i TPH2),

aminotransferaza kinureninowa I i II (KAT I i KATII), monoooksygenaza kinureninowa (KMO) oraz kinureninaza (KYNU). Wybór powyższych genów jest jak najbardziej uzasadniony, gdyż kodowane przez nie enzymy wiąże się w najnowszych badaniach/hipotezach z patomechanizmami leżącymi u podstaw depresji jak poziom aktywności antyoksydantów, nadprodukcja reaktywnych form tlenu, uszkodzenia DNA, peroksydacja lipidów, hipernitrozylacja aminokwasów czy też zaburzenie szlaku katabolitów tryptofanu związany z syntezą serotoniny.

Uzyskane wyniki opublikowano w ramach pięciu spójnych tematycznie pracach doświadczalnych i jednej przeglądowej wchodzących w skład rozprawy doktorskiej z dominującym wkładem mgr Paulina Wigner tj. 60%, 60%, 55% , 55%, 55% oraz 60% o sumarycznym *impact factor* IF = 21,983; IF 5-letni = 22,316 w wyniku współpracy z Uniwersytetem Medycznym w Łodzi oraz Zakładem Farmakologii Polskiej Akademii Nauk w Krakowie:

- Wigner P, Czarny P, Synowiec E, Bijak M, Białek K, Talarowska M, Galecki P, Szemraj J, Sliwinski T. Variation of genes involved in oxidative and nitrosative stresses in depression. *Eur Psychiatry*. 2018; 48: 38-48.
- Wigner P, Czarny P, Synowiec E, Bijak M, Białek K, Talarowska M, Galecki P, Szemraj J, Sliwinski T. Association between single nucleotide polymorphisms of TPH1 and TPH2 genes, and depressive disorders. *J Cell Mol Med*. 2018; 22(3): 1778-1791. Erratum in: *J Cell Mol Med*. 2018; 22(10):5171.
- Wigner P, Czarny P, Synowiec E, Bijak M, Talarowska M, Galecki P, Szemraj J, Sliwinski T. Variation of genes encoding KAT1, AADAT and IDO1 as a potential risk of depression development. *Eur Psychiatry*. 2018; 52: 95-103.
- Wigner P, Synowiec E, Czarny P, Bijak M, Józwiak P, Szemraj J, Gruca P, Papp M, Śliwiński T. Effects of venlafaxine on the expression level and methylation status of genes involved in oxidative stress in rats exposed to a chronic mild stress. *J Cell Mol Med*. 2020.
- Wigner P, Synowiec E, Józwiak P, Czarny P, Bijak M, Białek K, Szemraj J, Gruca P, Papp M, Śliwiński T. The effect of chronic mild stress and venlafaxine on the expression and methylation levels of genes involved in the tryptophan catabolites pathway in the blood and brain structures of rats. *J Mol Neurosci*. 2020.
- Wigner P, Czarny P, Galecki P, Su KP, Sliwinski T. The molecular aspects of oxidative & nitrosative stress and the tryptophan catabolites pathway (TRYCATs) as potential causes of depression. *Psychiatry Res*. 2018; 262: 566-574.

Ostatnia z wymienionych prac o charakterze przeglądowym stanowi pełne i systematyczne wprowadzenie do podjętej przez Panią mgr Paulinę Wigner tematyki badawczej. Autorzy odnosząc



się do najnowszej wiedzy z zakresu mechanizmów patogenezy depresji u podłoża których leży zaburzony szlak katabolitów tryptofanu oraz stres oksydacyjny i nitrozacyjny wyznaczają kierunek prowadzonych badań dla rozwoju nowych i skutecznych terapii. Badania mają więc nie tylko charakter podstawowych lecz również inklinacje aplikacyjne.

Ponadto, Pani Paulina Wigner jest współautorką 12 publikacji naukowych, co składa się na sumaryczny IF całkowitego dorobku wynoszący 59,972, IF 5-letni = 54,144, indeks Hirsha=6 (według bazy Scopus). Wyniki badań prezentowała na 25 konferencjach krajowych i o charakterze międzynarodowym na których była dwukrotnie wyróżniona. Podsumowując tę część recenzji, dorobek naukowy Doktorantki świadczy o dojrzałości naukowej oraz umiejętności pracy w zespole.

Badania prowadzone przez Panią mgr Paulinę Wigner były finansowane w ramach grantu Narodowego Centrum Nauki OPUS 10 nr 2015/19/B/NZ7/00410 pt. *Rola procesu zapalnego, stresu oksydacyjnego i nitryzacyjnego, szlaku katabolitów tryptofanu oraz naprawy DNA przez wycinanie zasad w depresji i w mechanizmie działania leków przeciwdepresyjnych, w przedklinicznych i klinicznych badaniach in vitro i in vivo* kierowanym przez prof. dr hab. Tomasza Śliwińskiego oraz dotacji celowej na działalność naukową dla doktorantów przyznaną przez Dziekana Wydziału BiOŚ UŁ w roku 2018 i 2019.

Istotnymi elementami wpływającym na wysoką jakość badań i ich publikację w prestiżowych czasopismach naukowych są kryteria wyboru materiału biologicznego oraz rzetelność prac laboratoryjnych z zastosowaniem metod biologii molekularnej. Badania przeprowadzono na zdefiniowanej klinicznie grupie pacjentów ze zdiagnozowaną depresją według kryteriów ICD-10 oraz skali Hamiltona, co umożliwiło weryfikację założonych w rozprawie celów pracy. Genotypy SNP oznaczono z zastosowaniem TaqMan SNP Genotyping Assay w łańcuchowej reakcji polimerazy w czasie rzeczywistym z pełną analizą statystyczną uzyskanych danych doświadczalnych. Drugą część rozprawy stanowiły badania *in vivo* na szczurach z prawidłowo przeprowadzoną procedurą chronicznego łagodnego stresu i terapii przeciwdepresyjnej z zastosowaniem wenlafaksyny wobec odpowiednio dobranych grup kontrolnych. Poziom ekspresji i stopień metylacji regionów promotorowych genów zaangażowanych w stres oksydacyjny, nitrycyjny oraz szlak TRYCATs oznaczono na poziomie mRNA z osadu PBMCs i tkanki mózgowej z zastosowaniem odpowiednio zestawu TaqMan™ Gene Expression Assay oraz MS-HRM z wykorzystaniem starterów zaprojektowanych w Methyl Primer Express™ Software v 1.0. Dodatkowo poziom ekspresji genów oznaczono na poziomie białka z zastosowaniem techniki Western blot. Zarówno dobór technik, jak ich również ich wykorzystanie praktyczne oraz

interpretacja uzyskanych wyników wskazują na bogaty warsztat metodyczny Pani mgr Pauliny Wigner, zwłaszcza z zakresu biologii molekularnej.

Uzyskane wyniki potwierdzają podstawę molekularną stresu oksydacyjnego i nitracyjnego oraz szlaku katabolitów tryptofanu w patogenezie depresji. Uszczegółowienie tej wiedzy wymaga jednak dalszych analiz, na co słusznie wskazuje Doktorantka. Zaobserwowana zmienność genetyczna (SNP) w obrębie analizowanych genów, jak również efekt modulujący wenlafaksyny na ich ekspresję oraz stopień metylacji regionów promotorowych wskazuje na molekularne podłoże depresji. Ciekawym wnioskiem są rozbieżności w poziomie ekspresji genów zarówno w obrębie tkanki jak również struktur mózgu, do których proszę się odnieść podczas obrony. Proszę również uściślić dlaczego SNP genów SOD2 i GPx4 można uznać za niezależne markery depresji; wniosek w pracy *Eur Psychiatry. 2018; 52: 95-103*.

Podsumowując stwierdzam, że przedstawiona mi do recenzji rozprawa doktorska Pani mgr Pauliny Wigner pt. *Rola stresu oksydacyjnego i nitracyjnego oraz szlaku katabolitów tryptofanu w patogenezie depresji* spełnia warunki określone w art. 13 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) i wnoszę do Komisji Uniwersytetu Łódzkiego ds. stopni naukowych w dyscyplinie nauki biologiczne o przyjęcie rozprawy i dopuszczenie Pani mgr Pauliny Wigner do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Ponadto, pragnę zgłosić rozprawę do wyróżnienia mając na uwadze poziom merytoryczny pracy, dorobek publikacyjny na bazie danych uzyskanych w rozprawie oraz jej charakter zarówno na poziomie badań podstawowych jak również aplikacyjnych.

