

Kielce, 31.08.2021

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

RECENZJA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

mgr Katarzyny Weroniki Białek

Rola stanu zapalnego w patogenezie zaburzeń depresyjnych

Depresja jest jedną z głównych przyczyn niepełnosprawności w wymiarze społecznym, w której patofizjologię zaangażowane są procesy zapalne. Badania z okresu, zwłaszcza z ostatnich 10 lat, wskazują na zaburzenia zarówno wrodzonego, jak i nabytego układu odpornościowego u pacjentów z depresją, co utrudnia korzystne rokowanie oraz odpowiedź na leczenie przeciwdepresyjne. Stan zapalny jest "modyfikatorem" zaburzeń depresyjnych, promując podatność na zmiany o podłożu psychosomatycznym. Kontrola stanu zapalnego jest jednym z czynników wpływających na skuteczność terapii zmian depresyjnych, którą utrudnia niejednorodność objawów zapalenia oraz różnorodność interwencji u pacjentów z depresją.

Badania nad rolą stanu zapalnego w patogenezie zaburzeń depresyjnych ciągle wymagają uzupełnienia głównie na poziomie molekularnym, w które wpisuje się tematyka recenzowanej rozprawy doktorskiej. Praca doktorska Pani mgr Katarzyny Białek stanowiąca podstawę do nadania stopnia doktora została wykonana w Katedrze Genetyki Molekularnej Instytutu Biochemii UŁ pod kierunkiem prof. dr hab. Tomasza Śliwińskiego we współpracy z Kliniką Psychiatrii Dorosłych Uniwersytetu Medycznego w Łodzi oraz Zakładem Farmakologii Polskiej Akademii Nauk w Krakowie. Badania zostały sfinansowane w ramach grantu Narodowego Centrum Nauki OPUS 10, jak również w ramach środków własnych UŁ. Rozprawę doktorską stanowi cykl spójnych tematycznie artykułów naukowych, trzech doświadczalnych oraz jednej pracy przeglądowej, opublikowanych w prestiżowych czasopismach naukowych o wysokich współczynnikach oddziaływania *impact factor* (sumarycznie 400 pkt. MNiSW; IF = 14.106):

1. Bialek K, Czarny P, Strycharz J, Sliwinski T. Major depressive disorders accompanying autoimmune diseases - response to treatment. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2019;95:109678. IF = 4.361
2. Bialek K, Czarny P, Watala C, Synowiec E, Wigner P, Bijak M, Talarowska M, Galecki P, Szemraj J, Sliwinski T. Preliminary study of the impact of single-nucleotide polymorphisms of IL-1 α , IL-1 β and TNF- α genes on the occurrence, severity and treatment effectiveness of the major depressive disorder. *Cell Mol Neurobiol*. 2020; 40(6):1049-1056. IF = 3.606
3. Bialek K, Czarny P, Watala C, Wigner P, Talarowska M, Galecki P, Szemraj J, Sliwinski T. Novel association between TGFA, TGFB1, IRF1, PTGS2 and IKBKB single-nucleotide polymorphisms and occurrence, severity and treatment response of major depressive disorder. *PeerJ*. 2020; 8:8676. IF = 2.380
4. Bialek K, Czarny P, Wigner P, Synowiec E, Barszczewska G, Bijak M, Szemraj J, Niemczyk M, Tota-Glowczyk K, Papp M, Sliwinski T. Chronic mild stress and venlafaxine treatment were associated with altered expression level and methylation status of new candidate inflammatory genes in PBMCS and brain structures of Wistar rats. *Genes (Basel)*. 2021; 12(5):667. IF = 3.759

Pani mgr Katarzyna Białek jest pierwszą autorką we wszystkich publikacjach, a jej udział w ich powstaniu jest kluczowy i związany jest zarówno z etapem planowania, jak również wykonania części doświadczalnej, opracowania i interpretacji wyników oraz przygotowanie manuskryptu do publikacji. Udział procentowy udziału Pani mgr K. Białek w powyższych publikacjach jest dominujący i wynosi on odpowiednio 70%, 55%, 65%, 60%.

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska to spójna koncepcja badań nad rolą stanu zapalnego w depresji na którą składają się jasno sformułowane cele badawcze tj. ocena związku genotypów i alleli polimorfizmów pojedynczego nukleotydu wybranych genów z wystąpieniem i przebiegiem depresji, jak również określenie wpływu procedury chronicznego łagodnego stresu oraz terapii wenlafaksyną na poziom ekspresji oraz stopień metylacji regionów promotorowych wybranych genów w komórkach jednojądrzastych krwi obwodowej oraz określonych strukturach mózgu. Cele badań zostały osiągnięte, a uzyskane wyniki zestawione z najnowszymi danymi literaturowymi według piśmiennictwa w ramach poszczególnych publikacji naukowych.

(Publikacja 1) Pełne wprowadzenie do badanej tematyki realizowanej w ramach pracy doktorskiej stanowi artykuł przeglądowy, w którym Pani mgr Katarzyna Białek odnosi się do dominującego obecnie modelu biopsychospołecznego depresji, zgodnie z którym w powstawaniu dolegliwości uczestniczą zarówno czynniki biologiczne jak i psychologiczne oraz społeczne. W sposób szczególny i precyzyjny przedstawia element „biologiczny” depresji tj. mechanizmy i rola

stanu zapalnego w depresji, w tym odpowiedź na leczenie farmakologiczne z wykorzystaniem leków przeciwzapalnych oraz związek pomiędzy depresją i zaburzeniami autoimmunologicznymi. Pani mgr Katarzyna Białek podkreśla, iż przedstawione w artykule dane wskazują na zestaw cytokin prozapalnych swoisty dla patogenezы i przebiegu depresji oraz chorób autoimmunologicznych. Sądę, iż te informacje były podstawą wyboru genów, których zmienność analizowano w ramach poniżej ocenianych prac doświadczalnych składających się na rozprawę doktorską.

(Publikacja 2,3) Do badań nad określeniem związku genotypów i alleli polimorfizmów pojedynczego nukleotydu z ryzykiem wystąpienia depresji, skutecznością leczenia przeciwdepresyjnego, wiekiem chorego podczas pierwszego epizodu oraz ciężkością nasilenia objawów wybrano zgodnie z danymi literaturowymi geny IL1A, IL1B, TNFA, TGFA, TGFB, PTGS2, IRF1, IKBKB. Badania przeprowadzono na grupie 270 (lub 180; w zależności od publikacji) pacjentów z depresją hospitalizowanych w Klinice Psychiatrii Dorosłych Uniwersytetu Medycznego w Łodzi oraz 210 (lub 180; w zależności od publikacji) osobowej grupie kontrolnej. Na uwagę zasługuje szczegółowa i prawidłowa klasyfikacja grup badawczych według Międzynarodowej Statystycznej Klasyfikacji Chorób i Problemów Zdrowotnych ICD-10, co ma kluczowe znaczenie w badaniach schorzeń o dużej różnorodności objawów. Przeprowadzona analiza rozkładu genotypów i alleli wybranych polimorfizmów z zastosowaniem sond TaqMan za pomocą łańcuchowej reakcji polimerazy z detekcją w czasie rzeczywistym, poddanych analizie statystycznej opartej na regresji logistycznej, wskazuje na podłoże genetyczne depresji związane ze stanem zapalnym. Z 11 poddanych ocenie polimorfizmów genów zaangażowanych w stan zapalny, osiem jest istotnie statystycznie związanych z ryzykiem wystąpienia depresji, odpowiedzią na farmakoterapię i/lub nasileniem objawów epizodu depresyjnego. Szczególnie istotną obserwacją o znaczeniu klinicznym jest korelacja pomiędzy zmiennością genetyczną w obrębie genów IRF1 i IKBKB a odpowiedzią na leczenie, co może mieć przełożenie praktyczne w przyszłości na opracowanie spersonalizowanej farmakoterapii. Uzyskane wyniki uszczegółwiają więc wiedzę podstawową z zakresu podłoża molekularnego depresji, jak również mogą być wyznacznikiem skutecznej interwencji klinicznej. Wyniki badań potwierdzają związek między depresją a stanem zapalnym i uszczegółwiają go na poziomie molekularnym, co świadczy o oryginalności badań. Dane literaturowe wskazują iż powyższy związek wydaje się być dwukierunkowy i tutaj mam pytania. Czy zastosowane narzędzia statystyczne lub dodatkowe analizy pozwoliłyby na ocenę wpływu depresji na przebieg stanu zapalnego? Mam świadomość, iż zagadnienie to wybiega ponad cel pracy, jednak mogłoby stanowić ciekawe rozszerzenie badań na przyszłość. Ponadto, interesuje mnie, co Doktorantka sądzi na temat

działania przeciwdepresyjnego środków przeciwzapalnych jako leczenie dodatkowe lub jako monoterapię, biorąc pod uwagę złożoność kaskady zapalnej.

(Publikacja 4) W kolejnej prac Pani mgr Katarzyna Białek zweryfikowała procedurę chronicznego łagodnego stresu (*Chronic Mild Stress*, CMS) oraz terapii wenlafaksyną na poziom ekspresji oraz stopień metylacji regionu promotorowego genów TGFA, TGFB, PTGS2, IRF1, IKBKB. Procedura CMS stanowi jeden z lepiej poznanych modeli depresji u zwierząt. Jednak, na co wskazuje Pani mgr Katarzyna Białek, jej zastosowanie w ocenie efekt przewlekłego stosowania przeciwdepresantów na poziom cząsteczek zapalnych w obwodowym i centralnym układzie nerwowy wymaga wstępnej weryfikacji. Świadczy to o oryginalności badań, biorąc pod uwagę fakt, iż powyższe zagadnienie jest nadal słabo poznane. Ponadto ocena zasadności stosowania procedury CMS w ocenie ekspresji TGFA, TGFB, IRF1, PTGS2 ma istotny i uniwersalny wymiar w stosowaniu powyższej procedury ogólnie w badaniach nad rolą stanu zapalnego w depresji. Powyższe, słuszne podejście metodyczne pozwala na pełne wnioskowanie na podstawie uzyskanych danych doświadczalnych. Pani mgr Katarzyna Białek zaobserwowała wzrost ekspresji badanych genów po trwającej 7 tygodni procedurze CMS i ich spadek po 5 dwutygodniowej terapii wenlafaksyną, za wyjątkiem genu TGFA w hipokampie. Ważnym wnioskiem wynikającym z analiz genetycznych są różnice zarówno w poziomie ekspresji jaki i metylacji regionów promotorowych testowanych genów. Sądzę, iż istotnym elementem opublikowanych badań jest ich rzetelna weryfikacja z uwzględnieniem ograniczeń metodycznych oraz możliwości ekstrapolacji wyników, czemu Pani mgr Katarzyna Białek dała wyraz w rozdziale dyskusja w publikacji nr. 4. Świadczy to o opanowaniu technik doświadczalnych z zakresu biologii molekularnej oraz dojrzałości jako badacza. Ponadto, o aktywności naukowej Doktorantki świadczy jej pozostały w stosunku do rozprawy doktorskiej, dorobek naukowy: współautorstwo 9 publikacji naukowych o sumarycznym IF=35.875, współautorstwo rozdziału w monografii zagranicznej oraz udział w 10 konferencjach naukowych o zasięgu krajowym i międzynarodowym.

Podsumowując stwierdzam, że przedstawiona mi do recenzji rozprawa doktorska Pani mgr Katarzyny Białek pt. „Rola stanu zapalnego w patogenezie zaburzeń depresyjnych” 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). Kompetencje Pani mgr Katarzyny Białek jako pracownika naukowego oceniam bardzo wysoko i wnoszę do Komisji Uniwersytetu Łódzkiego ds. stopni naukowych w dyscyplinie nauki biologiczne o przyjęcie rozprawy i dopuszczenie Pani mgr Katarzyny Białek do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

dr hab. Michał Arabski
Uniwersytet Jana Kochanowskiego
w Kielcach