



Warszawa, 19 marca 2020

Prof. dr hab. Tadeusz Malewski  
Zakład Techniki Molekularnych i Biometrycznych  
Muzeum i Instytut Zoologii, PAN

## RECENZJA

### rozprawy doktorskiej

#### pt. Polimorfizmy i ekspresja wybranych cytochromów u pacjentów z depresją

Najnowsze dane opublikowane przez WHO szacują, że liczba mieszkańców Europejskiego Regionu WHO cierpiących na depresję osiągnęła 40 mln., a wskaźniki rozpowszechnienia choroby w poszczególnych krajach wahają się w przedziałach od 3,8% do 6,3% ogółu ludności. Bardzo ważną kwestią jest szybka diagnostyka i podjęcie właściwego leczenia tych osób. Obecnie, skuteczność stosowania pierwszego antydepresanta nie osiąga nawet 70%, znaczna część leczonych uzyskuje słaby efekt leczniczy, a 20% przejawia widoczne symptomy choroby na dwa lata od momentu diagnozy.

Pomimo ogromnej różnorodności dostępnych leków, nadal u około 30–40% pacjentów pierwszy przepisany lek nie jest w pełni skuteczny. Ta sytuacja jest poważnym problemem zarówno dla pacjenta, jak i dla lekarza. Niestety, dotychczas nieznanne są kliniczne czynniki prognostyczne, wskazujące, który lek będzie działać skutecznie u określonego pacjenta. Przyczyny depresji nadal pozostają nie do końca poznane. Udział czynników genetycznych w etiologii depresji szacuje się na 33–45%. Identyfikacja genów predysponujących i warunkujących przebieg depresji otwiera drogę do opracowania spersonalizowanej terapii. Leczenie farmakologiczne jest najczęściej wybieraną metodą leczenia zaburzeń depresyjnych. Jedną z grup genów odpowiedzialnych za metabolizm ksenobiotyków wprowadzanych do organizmu są cytochromy P450.

Cytochromy P450 to liczna grupa genów kodujących wielofunkcyjne białka o właściwościach monooksygenaz będących ważnym elementem w metabolizmie ksenobiotyków. Za transformację ponad 90% leków odpowiedzialne są enzymy z rodzin: CYP1, CYP2 i CYP3. Polimorfizm oraz poziom ekspresji genów kodujących cytochromy

mają wpływ na zdolność metabolizowania przez te białka leków i innych substancji chemicznych. Analiza polimorfizmu genów cytochromu jest jednym z wartościowych narzędzi wykorzystywanych w medycynie. Na tej podstawie można określić w jaki sposób poszczególne osoby reagują na leczenie farmakologiczne.

#### Trafność podjętej problematyki badawczej:

Wybór tematu rozprawy doktorskiej należy uznać za trafny i merytorycznie uzasadniony. Polimorfizm oraz poziom ekspresji genów kodujących cytochromy mają wpływ na zdolność metabolizowania przez te białka biofarmaceutyków. Niestety, udział poszczególnych genów cytochromu w etiologii depresji oraz w metabolizmie leków antydepresyjnych jest jeszcze niewystarczająco zbadany. W związku z powyższym podjęcie przez Doktoranta badań dotyczących polimorfizmu i ekspresji genów cytochromu u pacjentów z depresją należy uznać za uzasadnione. Wybór cytochromów do pracy badawczej Doktorant oparł o ich spektrum substratowe. W pracy zostały uwzględnione te cytochromy, które odgrywają kluczową rolę w metabolizmie obecnie stosowanych leków przeciwdepresyjnych.

#### Dobór literatury, umiejętność wykorzystania źródeł:

W obszernej części teoretycznej Doktorant przedstawił zarówno zagadnienia dotyczące depresji, jak również cytochromu P450. Przegląd aktualnej literatury przedmiotu stanowi bardzo dobre wprowadzenie w zagadnienia, które zostały przedstawione w celach pracy. Dyskusja została oparta na bogatym materiale faktograficznym, a własne uwagi i spostrzeżenia zostały skonfrontowane z poglądami innych autorów, których prace zostały zawarte w obszernej bibliografii liczącej 131 pozycji. Przytoczone piśmiennictwo jest aktualne, prawidłowo dobrane i jednolicie opracowane.

#### Poprawność formułowania problemów i hipotez:

Założenia i cele zostały jasno i precyzyjnie sformułowane. Doktorant sformułował cztery cele pracy:

- Porównanie częstości występowania wariantów allelicznych *CYP3A4\*1B*, *CYP3A5\*3* oraz *CYP2C19\*2* w grupie pacjentów cierpiących na zaburzenia depresyjne nawracające oraz w grupie osób zdrowych.



- Ocena względnego poziomu ekspresji genu *CYP3A4* oraz powiązanie go z wariantem polimorficznym *CYP3A4\*1B*.
- Poszukiwanie korelacji pomiędzy poszczególnymi allelami i genotypami wybranych polimorfizmów z wiekiem oraz płcią pacjenta, wiekiem w momencie zachorowania, nasileniem objawów choroby przed wdrożeniem leczenia oraz ze skutecznością terapii.
- Poszukiwanie korelacji pomiędzy relatywnym poziomem ekspresji genu *CYP3A4* z wiekiem oraz płcią pacjenta, wiekiem w momencie zachorowania, nasileniem objawów choroby przed wdrożeniem leczenia oraz ze skutecznością terapii.

Wyżej wymienione cele pozwoliły Doktorantowi określić zadania badawcze prowadzące do rozwiązania postawionego problemu.

#### Trafność doboru metod i narzędzi badawczych, umiejętność ich zastosowania:

Badania zostały przeprowadzone na 108 próbach krwi pozostałej po badaniach diagnostycznych pacjentów oraz 93 próbach pobranej od zdrowych osób. Dobór metod badawczych nie budzi zastrzeżeń. W pracy wykorzystano metody statystyczne adekwatne do zakresu wykonywanych badań. Brakuje jednak informacji gdzie w *CYP3A4* znajduje się rs2740574 - w sekwencji genu kodującej białko czy też w rejonach regulatorowych. Doktorant analizował wpływ wielu czynników na ekspresję genu *CYP3A4*, ale niestety, pominął leki stosowane do leczenia depresji. Prawdopodobnie dlatego Doktorantowi nie udało się stwierdzić zależności między ekspresją genu a badanymi wskaźnikami.

#### Ocena uzyskanych wyników i ich znaczenie dla nauki i praktyki:

Literatura przedmiotu dotycząca znaczenia cytochromu w przebiegu i farmakogenetyce depresji nie jest obszerna. Uzyskane w tej pracy wyniki badań wykazały możliwość wpływu genotypu *CYP3A5\*3* na zmniejszenie ryzyka zachorowania na depresję, genotypu *CYP3A5\*3/\*3* na wystąpienie pierwszego epizodu depresyjnego w młodszym wieku, natomiast genotyp *CYP2C19\*2* związany został z lepszą odpowiedzią na leczenie. W związku z powyższym, uzyskane w pracy wyniki badań przyczyniają się do pogłębienia wiedzy dotyczącej molekularnych podstaw depresji. Zastosowanie genotypowania może znacząco zmniejszyć ilość podejmowanych prób leczenia.



### Poprawność układu rozprawy i struktury podziału treści:

Rozprawa ma charakter monotematycznej monografii liczącej łącznie 114 stron. Praca posiada właściwy układ rozdziałów, typowy dla rozpraw na stopień doktora nauk farmaceutycznych. Treść wniosków końcowych jest adekwatna do założeń i celu rozprawy oraz znajduje pełne uzasadnienie w uzyskanych wynikach badań. Wyniki badań zostały przedstawione w sposób zarówno opisowy jak również graficzny za pomocą 19 tabel i 32 rycin, które ułatwiają merytoryczną interpretację tekstu i dodatkowo dokumentują bardzo duże zaangażowanie i pracowitość Autora. Wyniki pracy zostały opublikowane w czterech publikacjach, z czego trzy w czasopismach o wysim IF.

### **Wniosek końcowy:**

Zapoznanie się z rozprawą doktorską pozwala na wysunięcie wniosku, że Doktorant posiada obszerną wiedzę praktyczną i teoretyczną w obszarze zagadnień poruszanych w dysertacji. W ocenie merytorycznej stwierdzam, że problem zawarty w przedłożonej mi do oceny rozprawy doktorskiej został jednoznacznie sprecyzowany i uzasadniony. Założenia pracy w relacji do stanu wiedzy były poprawne, zaś aktualność i znaczenie tych badań zarówno poznawcza i praktyczna w pełni odpowiadają problemom współczesnej analityki medycznej.

Przedstawiona do recenzji rozprawa spełnia kryteria stawiane dysertacjom naukowym na stopień doktora nauk farmaceutycznych określone w Ustawie z dnia 13 marca 2003 o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki z późn. zmianami.

**Mam zaszczyt przedstawić Wysokiej Radzie Wydziału Farmaceutycznego Uniwersytetu Medycznego w Łodzi wniosek o dopuszczenie mgr Rafała Święchowskiego do dalszych etapów przewodu doktorskiego.**

Jednocześnie zwracam się z prośbą o rozważenie możliwości wyróżnienia tej pracy z uwagi na opisane w niej badania, które w istotny sposób przyczyniły się do pogłębienia wiedzy dotyczącej molekularnych podstaw depresji.

