



UNIwersYTET MEDYCZNY
IM. PIASTÓW ŚLĄSKICH WE WROCŁAWIU

Katedra i Klinika Psychiatrii
Kierownik: prof. dr hab. n. med. Błażej Misiak

Wrocław, dn. 04.04.2025 r.

Recenzja rozprawy doktorskiej mgr. Kosmy Sakrajdy

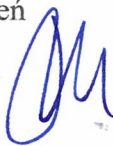
**„Zmiany ekspresji markerów związanych ze stanem zapalnym
w przebiegu choroby afektywnej dwubiegunowej pod wpływem węglanu litu”**

Promotor: prof. dr hab. Aleksandra Szczepankiewicz

Zaburzenie dwubiegunowe (ang. *bipolar disorder*, BD) jest przewlekłym zaburzeniem, które charakteryzują nawracające epizody depresji, manii i/lub hipomanii oraz stanów mieszanych. Rozpowszechnienie BD szacowane jest na ok. 2%. Z uwagi na wysokie rozpowszechnienie i przewlekły przebieg, BD jest uważane za jedną z wiodących przyczyn niepełnosprawności. Leczenie BD jest procesem złożonym i wiążącym się ze stosowaniem szeregu strategii farmakologicznych i nefarmakologicznych. W farmakoterapii BD kluczową rolę odgrywa stosowanie leków zaliczanych do tzw. stabilizatorów nastroju, reprezentowanych przez sole litu, które posiadają wysoką skuteczność nie tylko w profilaktyce nawrotów BD, ale także ich leczeniu. Mechanizm działania tych leków nie został dotychczas dobrze poznany.

Jedną z wiodących koncepcji rozwoju BD jest teoria neurozapalna. Podstawą teorii neurozapalnej BD są obserwacje dotyczące obecności subklinicznego stanu zapalnego u osób z BD, który manifestuje się szeregiem nieprawidłowości odpowiedzi immunologiczno-zapalnej, takimi jak podwyższenie stężenia i/lub wzrost ekspresji białek ostrej fazy, cytokin prozapalnych, szeregu swoistych i nieswoistych przeciwciał we krwi obwodowej. Obserwacje w tym zakresie wydają się również korelować z centralnymi wykładnikami aktywacji odpowiedzi immunologiczno-zapalnej, takimi jak aktywacja mikrogleju. Dodatkowo, wykazano, że niektóre warianty genów, kodujących białka odgrywające rolę w odpowiedzi immunologiczno-zapalnej, mogą wpływać na ryzyko rozwoju BD. Ciekawą obserwacją jest również potencjalny wpływ leków stosowanych w terapii BD, takich jak lit, leki przeciwpsychotyczne, czy leki przeciwdepresyjne, na odpowiedź immunologiczno-zapalną, co może być związane również z mechanizmami leżącymi u podstaw ich skuteczności. Podążając za tym nurtem badań nad mechanizmami leżącymi u podstaw patogenezy BD, hipoteza badawcza przedstawionej pracy doktorskiej stanowiła, że węglan litu wpływa na ekspresję markerów związanych ze stanem zapalnym w BD obniżając ekspresję markerów charakterystycznych dla aktywacji prozapalnej makrofagów i komórek mikrogleju, zarówno w tkankach obwodowych (krew osób z BD leczonych węglanem litu), jak i w komórkach ośrodkowego układu nerwowego (komórki ludzkiego mikrogleju w modelu neurozapalenia *in vitro*). Celem przedstawionej pracy była analiza wpływu terapii węglanem litu na ekspresję czynników związanych z odpowiedzią immunologiczną we krwi obwodowej osób z BD oraz *in vitro* z użyciem modelu neurozapalenia, w celu lepszego zrozumienia immunomodulacyjnego mechanizmu działania litu w komórkach mikrogleju.

Od strony formalnej, przedstawiona do oceny praca została prawidłowo skonstruowana i zawiera części zwyczajowo przyjęte dla rozpraw doktorskich. Dysertacja liczy 82 strony. Głównymi częściami pracy doktorskiej są wstęp, charakterystyka założeń



pracy, przedstawienie publikacji wchodzących w skład cyklu i omówienie wniosków. Dodatkowo, w pracy doktorskiej zawarto informację o źródle finansowania badań, wykaz stosowanych skrótów, opis aktywności i dorobku naukowego Doktoranta, zestawienie piśmiennictwa, streszczenie w języku polskim i angielskim, kopie artykułów stanowiących cykl publikacji, pisemne oświadczenia współautorów publikacji oraz opinię Komisji Bioetycznej.

We wstępie, Doktorant przedstawia syntetycznie i w przystępny sposób istniejący stan wiedzy na temat aspektów klinicznych i patogenetycznych BD, ze szczególnym uwzględnieniem koncepcji immunologiczno-zapalnej. W kolejnym rozdziale przedstawia założenia przedstawionych badań, sformułowaną hipotezę oraz cel badań. Praca doktorska została oparta o 3 publikacje w recenzowanych czasopismach naukowych o zasięgu międzynarodowym:

1. **Sakrajda K**, Szczepankiewicz A. Inflammation-Related Changes in Mood Disorders and the Immunomodulatory Role of Lithium. *Int J Mol Sci.* 2021;22(4):1532. doi: 10.3390/ijms22041532. IF 6.208, Pkt. MNiSW: 140
2. **Sakrajda K**, Bilaska K, Czerski PM, Narożna B, Dmitrzak-Węglarz M, Heilmann-Heimbach S, Brockschmidt FF, Herms S, Nöthen MM, Cichon S, Więckowska B, Rybakowski JK, Pawlak J, Szczepankiewicz A. Abelson Helper Integration Site 1 haplotypes and peripheral blood expression associates with lithium response and immunomodulation in bipolar patients. *Psychopharmacology (Berl).* 2024;241(4):727-738. doi: 10.1007/s00213-023-06505-5. IF 3.5, Pkt. MNiSW: 140.
3. **Sakrajda K**, Langwiński W, Stachowiak Z, Ziarniak K, Narożna B, Szczepankiewicz A. Immunomodulatory effect of lithium treatment on in vitro model of neuroinflammation. *Neuropharmacology.* 2025;265:110238. doi: 10.1016/j.neuropharm.2024.110238. IF 4.6, Pkt. MNiSW: 140



We wszystkich publikacjach, Doktorant miał wiodący wkład w ich powstanie. Publikacja nr 1 ma charakter przeglądu narracyjnego, w którym Doktorant przedstawia kluczowe aspekty dotyczące koncepcji immunologiczno-zapalnej zaburzeń nastroju oraz immunomodulującego działania litu. Jest to bardzo wartościowa praca, która pokazuje znajomość obranego obszaru badań, umiejętność krytycznego spojrzenia na istniejący stan wiedzy oraz formułowania rekomendacji dla kolejnych badań.

Publikacja nr 2 przedstawia wyniki badań oryginalnych, w których analizowano haplotypy i ekspresję białka *Abelson Helper Integration Site 1* (AHI1) u 97 osób z rozpoznaniem BD i 19 osób zdrowych. Badania oparto na wcześniejszych wynikach sugerujących związek pomiędzy ekspresją AHI1 na poziomie genu i białka oraz nieswoistą odpowiedzią immunologiczną w zaburzeniach nastroju. Wykazano związek haplotypu TG obejmującego dwa miejsca polimorficzne genu AHI1 (rs7739635, rs9494332) z odpowiedzią na lit. Dodatkowo, ekspresja AHI1 była istotnie wyższa u osób z dobrą odpowiedzią na leczenie litem w porównaniu do osób ze słabą odpowiedzią na leczenie litem oraz osób zdrowych. Oceniono również ekspresję innych genów związanych z nieswoistą odpowiedzią immunologiczną (TLR4, CASP4, CASP5, NLRP3, IL1A, IL1B, IL6, IL10 i IL18). Nie zaobserwowano podobnych zależności w kontekście odpowiedzi na leczenie litem. Jednakże, wykazano, że ekspresja genów TLR4, NLRP3 i CASP4 we krwi wszystkich osób z BD w stanie eutymii (niezależnie od stosowanego leku) była istotnie niższa, a ekspresja IL1A była istotnie wyższa w porównaniu do grupy kontrolnej osób zdrowych.

Publikacja nr 3 przedstawia wyniki badań eksperymentalnych przeprowadzonych na linii komórkowej mikrogleju (HMC3). W badaniach postawiono hipotezę, że lit może modulować odpowiedź mikrogleju na cytokiny związane z nieswoistą odpowiedzią immunologiczną (TNF- α , IL-1 β i IFN- γ). Odpowiedź mikrogleju oceniono w kontekście ekspresji genów związanych z inflamasomem NLRP3. Dodatkowo



dokonano analizy aktywności kaspazowej, ekspresji białka GSK-3 β oraz zewnątrzkomórkowego stężenia IL-1 β i mleczanu. Wykazano, że krótkotrwałe podawanie litu po aktywacji prozapalnej prowadziło do niższej ekspresji genów NF κ B1, NLRP3, CASP1 i CASP4 w porównaniu do grupy stymulowanej zapalnie. Stwierdzono również, że krótkotrwałe podawanie litu przed stymulacją zapalną zwiększało ekspresję genów związanych z inflamasomem NLRP3 w porównaniu do kontroli stymulowanej zapalnie. Tylko w tej grupie zaobserwowano wzrost ekspresji IL-1 β . Podczas przewlekłego podawania litu po aktywacji zapalnej opisano istotne obniżenie ekspresji wszystkich genów związanych z nieswoistą odpowiedzią immunologiczną w porównaniu zarówno do kontroli stymulowanej zapalnie, jak i w porównaniu do grupy, której przewlekłe podawano lit przed stymulacją zapalną. Analiza aktywności kaspaz wykazała, że krótkotrwałe traktowanie litem, zarówno przed, jak i po stymulacji zapalnej, spowodowało istotne podwyższenie ich aktywności. W warunkach przewlekłego podawania litu, komórki mikrogleju ekspozycjonowane na lit po stymulacji zapalnej osiągały poziom aktywności kaspaz podobny do komórek kontrolnych hodowanych jedynie w standardowej pożywce. Pomiar stężenia IL-1 β wydzielanej przez komórki mikrogleju do pożywki wykazał, że krótkoterminowe traktowanie litem po stymulacji zapalnej spowodowało obniżenie sekrecji IL-1 β . W trakcie przewlekłego traktowania litem, po stymulacji zapalnej, zaobserwowano obniżenie sekrecji interleukiny poniżej stężenia w grupie kontrolnej, podczas gdy stężenie interleukiny po długotrwałym stosowaniu litu przed stymulacją zapalną istotnie przewyższało to obserwowane we wszystkich grupach. Nie wykazano istotnych różnic w odniesieniu do mleczanu, odzwierciedlającego procesy energetyczne. W celu lepszego zrozumienia obserwowanego wpływu litu na inflamasom NLRP3, w kontekście aktywności białka GSK-3 β , przeprowadzono analizę ekspresji zarówno całkowitego białka GSK-3 β , jak i jego formy ufosforylowanej, która wykazała, że tylko długoterminowe podawanie litu skutecznie



hamowało GSK-3 β . Całość wyników potwierdza immunomodulujący wpływ litu, którego specyfika może być również zależna od czasu stosowania litu.

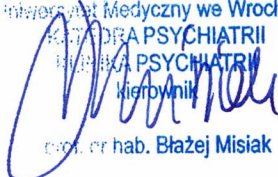
Podsumowując, przedstawiona do oceny praca doktorska została oparta o spójny, powiązany tematycznie cykl wysoko punktowanych publikacji naukowych. Stanowi wzorcowy przykład realizacji doktoratu, w którym doskonale zostały zaplanowane poszczególne etapy pracy naukowej. Uzyskane wyniki istotnie pogłębiają istniejący stan wiedzy na temat immunomodulującego działania litu oraz koncepcji neurozapalnej BD. Praca doktorska jednoznacznie przemawia za wysokimi kompetencjami planowania i prowadzenia badań oryginalnych oraz interpretacji ich wyników w kontekście aktualnego stanu wiedzy. Praca przeglądowa, będąca istotną składową cyklu publikacji, pokazuje, że Doktorant znakomicie porusza się w wybranym obszarze badań, posiada umiejętność syntezy istniejących dowodów naukowych oraz ich krytycznej interpretacji. Poniżej przedstawiam nieliczne uwagi, które nie wpływają na mój bardzo pozytywny odbiór pracy doktorskiej:

- Odnosząc się do publikacji nr 2, choć w sposób trafny zauważono stosunkowo niewielką liczebność grup, to warto byłoby również przeprowadzić analizę mocy statystycznej typu „*post-hoc*”. Dodatkowym atutem mogłoby być również szersze przedstawienie charakterystyki klinicznej pacjentów i uwzględnienie potencjalnego wpływu zakłócającego ewentualnych różnic międzygrupowych w modelach wieloczynnikowych.
- W kontekście publikacji nr 3, ciekawym ujęciem mogłoby być porównaniu wpływu litu z innymi stabilizatorami nastroju, które są stosowane w leczeniu BD.

W świetle przedstawionej, pozytywnej oceny, stwierdzam, że **rozprawa doktorska mgr. Kosmy Sakrajdy pt. „Zmiany ekspresji markerów związanych ze stanem zapalnym w przebiegu choroby afektywnej dwubiegunowej pod wpływem węglanu litu”** spełnia warunki określone w art. 187 ust. 1-4 Ustawy *Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce* (t.j.



Dz. U. 2023, poz. 742 z późn. zm.). W związku z tym, stawiam wniosek o dopuszczenie mgr. inż. Kosmy Sakrajdy do dalszych etapów postępowania w sprawie nadania stopnia doktora. **Z uwagi na wyjątkowo wysoką wartość pracy doktorskiej i opublikowanie jej wyników w wysoko punktowanych czasopismach o zasięgu międzynarodowym, wnioskuję o jej wyróżnienie.**

Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu
KATEDRA PSYCHIATRII
KATEDRA PSYCHIATRII
Kierownik

prof. dr hab. Błażej Misiak