



## RECENZJA

rozprawy doktorskiej mgr Agathy GRELA

pt: *Application of lipidomics in the search of depression biomarkers*

wykonanej na Wydziale Chemicznym Uniwersytetu Jagiellońskiego

pod kierunkiem: prof. dr hab. n. med. Wojciecha Piekoszewskiego

jako promotorem

Zagadnienia związane z poszukiwaniem nowych biomarkerów chorób cywilizacyjnych, takich jak; choroby nowotworowe, depresja, cukrzyca stanowi aktualne i ambitne wyzwanie naukowe. Lipidomika jako element nauk omicznych, jest coraz częściej wykorzystywana w naukach biomedycznych oraz w rutynowych badaniach klinicznych. Głównym założeniem badań z zakresu lipidomiki jest m.in. wyjaśnienie zaburzenia metabolomicznego przebiegających w jednostce chorobowej na poziomie komórkowym, poprzez identyfikację oraz zmiany stężenia związków lipidowych. Homeostaza lipidów ma kluczowe znaczenie w utrzymaniu prawidłowego funkcjonowania zdrowia człowieka. Jej zaburzenie skutkuje zmianami w szlakach metabolicznych innych związków, co z kolei wpływa na rozwój wielu chorób, takich jak: choroby sercowo-naczyniowe, nowotwory, choroby zakaźne czy choroby neurodegeneracyjne. Autorka dysertacji zauważa, że wczesna i precyzyjna diagnoza, powoduje podjęcie skutecznej, dedykowanej (spersonalizowanej) terapii, doprowadzającej do skutecznego wyleczenia jak i poprawy komfortu życia pacjenta.

Rozprawa doktorska opracowana przez p. mgr Agathę Grela poświęcona jest właśnie tym zagadnieniom, odnoszącym się do szeroko pojętej lipidomiki z wykorzystaniem analityki biomedycznej i aparatu chemometrycznego. Badania te dotyczyły głównie wykorzystania danych lipidomicznych, takich jak: zawartość kwasów tłuszczowych, fosfolipidów, sfingolipidów oraz estrów cholesterolowych, pozyskanych od pacjentów chorych na depresje jak i osób zdrowych. Dane te uzupełnione o klasyczną analizę biochemiczną krwi, w skład której wchodziły badania witamin (D3, B12 i kwasu foliowego), hormonów, wybranych enzymów (ALT i AST) i lipidogram (całkowita zawartość cholesterolu, lipoproteidy o niskiej gęstości i lipoproteidy o wysokiej gęstości). Wszystko w celu stworzenia

prognostycznego modelu statystyczno-matematycznego, jako narzędzia dla potrzeb diagnostyki schorzeń neurologicznych.

Ocenianą rozprawę doktorską stanowi zwarte opracowanie o charakterze monograficznym opisane na 123 stronach maszynopisu ilustrowanego 29 rysunkami, 18 tabelami, 147 pozycjami literaturowymi, spisem rysunków i aneksem zawierającym 2 dodatkowe tabele z danymi eksperymentalnymi oraz ankietą wykorzystywaną w badaniach. Całość uzupełnia streszczenie w języku polskim i angielskim. Zatem dokumentacja jest kompletna.

Cześć teoretyczna pracy przedstawiona na 64 stronach, prezentuje zwięzły i szczegółowy opis lipidów ich metabolizm oraz ich wpływ na w różnego rodzaju schorzenia neuropsychiatryczne np. choroba Alzheimera, Parkinsona, schizofrenia czy/i zespół nadpobudliwości z deficytem uwagi. Tematyka zatem jest interdyscyplinarna i odnosi się zarówno do chemii, medycyny jak i analizy statystycznej. Generalnie, skupia się wokół poszukiwania i opracowania modeli statystyczno-matematycznych, jako potencjalnych narzędzi diagnostycznych w terapiach chorób neurologicznych. Opracowanie jest napisane dobrym i poprawnym językiem angielskim i nie wnoszę większych zastrzeżeń zarówno formalnych jak i merytorycznych. W tym miejscu należą się słowa uznania zarówno Doktorantce jak i Promotorowi za wybór aktualnego i ważnego tematu, określenie celu badań i wybór metod umożliwiających jego realizację. Otrzymane przez Doktorantkę wyniki oceniam wysoko a potwierdzeniem tego są opublikowane prace (4) w krajowych i międzynarodowych czasopismach specjalistycznych (np.: *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*, *Italian Journal of Food Science*, *Przegląd Lekarski*).

Za najważniejsze osiągnięcia Doktorantki uważam:

1. Określenie profilu lipidowego dla badanej grupy osób chorych na depresję.
2. Wykorzystanie sprzężonych technik separacyjnych (techniki ekstrakcyjne, chromatografia cieczowa i gazowa) połączonych ze spektrometrią mas jako narzędzie w analizie lipidów w złożonej matrycy biologicznej jaką jest krew ludzka.
3. Opracowanie nowego modelu matematycznego, wykorzystującego zaawansowane metody analizy statystycznej (chemometrii), takie jak: test Shapiro-Wilk, test Ansari-Bradley czy U-test Mann-Whitney, jako futurystyczne narzędzie w diagnozie schorzeń neurologicznych. Pierwsze badania z wykorzystaniem opracowanego przez Doktorantkę modelu, wykazują pozytywne przesłanki w poprawnej klasyfikacji osób cierpiących na depresję.

4. Wykazanie znamiennych różnic w U-teście Mann-Whitney, pomiędzy grupą kontrolną (zdrowe osoby) a pacjentami z zaburzeniami depresyjnymi, w biochemicznej analizie lipidów, gdzie poziom istotności  $p$  wynosił poniżej 0.05.

Jak w każdej recenzowanej pracy doszukać się można różnych uchybień i niejasności, które należy poddać dyskusji i krytyce. Stwierdzam, że takowych uchybień w dysertacji jest bardzo niewiele. Ewidentnie jest to efekt starannej korekty autorskiej, jak również rygorystycznej oceny wyników badań przed ich opublikowaniem. Mam wszakże kilka pytań i uwag:

1. Dużą część pracy stanowi, część teoretyczna – opisowa. Wg mnie zbyt mało poświęciła Pani dyskusji uzyskanych wyników (tylko 28 stron). Wprawdzie stosunek części teoretycznej do eksperymentalnej jest zachowany (50/50), to jednak od tego typu pracy oczekuje się czegoś więcej.
2. W pracy wykorzystuje Pani techniki chromatograficzne: GC w analizie kwasów tłuszczowych oraz w połączeniu ze spektrometrią mas (MS) w analizie lipidów. Jednak w całej pracy, nie przedstawiła Pani ani jednego chromatogramu czy widm MS. Dlaczego? Co posłużyło Pani do wyznaczania biomarkerów? Jakie kryteria Pani wykorzystwała?
3. W tabeli 13 przedstawione są cząsteczki fosfatydyloinozytolu, jednak w części eksperymentalnej jak i w części teoretycznej nie jest napisane w jakim trybie skanowania jonów (pozytywny czy negatywny) były uzyskane widma. Proszę o wyjaśnienie.

Przytoczone uwagi nie mają istotnego wpływu na wartość merytoryczną ocenianej rozprawy doktorskiej. Są dyskusyjne i mam nadzieję ze uzyskam wyjaśnienia podczas publicznej obrony. Stwierdzam też, że cel zrealizowanej pracy został w pełni osiągnięty, a postawione przez Autorkę tezy znalazły potwierdzenie w uzyskanych wynikach. Jednocześnie uważam, że w świetle obowiązujących przepisów (Ustawa z dnia 14 marca 2003 roku *O stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki z uzupełnieniami*) przedstawiona rozprawa spełnia wymogi stawiane pracom doktorskim i **wnoszę** do Rady Wydziału Chemii Uniwersytetu Jagiellońskiego o dopuszczenie mgr Agathy Grela do dalszych etapów postępowania celem uzyskania stopnia **doktora nauk chemicznych**.

Stary Toruń/Toruń, 2 listopad 2015 r.

KIEROWNIK  
Katedry Chemii Środowiska i Bioanalityki

  
prof. dr hab. Bogusław Buszewski