

Zakład Neurobiologii
Instytut Farmakologii
Polskiej Akademii Nauk
ul. Smętna 12, 31-343 Kraków

Kraków, 13.11.2015

OCENA

rozprawy Agathy Grela pt.

“Application of Lipidomics in the Search of Depression Biomarkers”

Lipidy są ważnymi związkami regulującymi funkcję centralnego układu nerwowego, a ostatnio wykazano ich rolę w chorobach neurodegeneracyjnych i zaburzeniach psychicznych. Rozwój nowoczesnych technik chromatografii gazowej, cieczowej i spektrometrii masowej umożliwił szybką i efektywną analizę lipidów w próbkach biologicznych, w tym w surowicy/osoczu krwi, tworząc fundament lipidomiki. Ocena zmian profilu lipidowego u pacjentów może być podstawą identyfikacji zaburzonych szlaków metabolizmu lipidów charakterystycznych w danej jednostce chorobowej i mieć znaczenie diagnostyczne.

Wybór celu jakim była ocena zastosowania lipidomiki (analizy wybranych lipidów) w zaburzeniach depresyjnych był więc jak najbardziej uzasadniony. Ponadto doktorantka dokonała próby zastosowania predykcyjnych modeli matematycznych danych lipidomicznych do rozróżnienia pacjentów depresyjnych od zdrowych ochotników.

Przedstawiona do oceny rozprawa obejmuje 123 stron wydruku komputerowego w języku angielskim, 28 rycin i 18 tabel. Posiada typowy układ edytorski: Wstęp (48 stron), cel pracy, Materiał i Metody - 5 stron, Wyniki i dyskusja - 28 stron, Wnioski, Streszczenie (polskie i angielskie), wykaz skrótów, aneksy oraz Piśmiennictwo - zawierające ok. 148 pozycji (nie numerowane).

Wstęp - opisuje rolę fosfolipidów w centralnym układzie nerwowym, krótko (może nawet zbyt krótko) charakteryzuje depresję i szeroko przedstawia rolę lipidów w zaburzeniach neuropsychicznych. W części metodologicznej opis badanych grup skupia się tylko na jednym podziale: pacjenci z nawracającą depresją i ochotnicy jako grupa kontrolna, gdy inne grupy pacjentów pojawiają się w dalszych częściach rozprawy doktorskiej.

Nie chcąc powtarzać informacji zawartych w rozprawie, (które zapewne doktorantka przedstawi w trakcie obrony) moja recenzja skupi się tylko na najważniejszych pozytywnych oraz negatywnych aspektach tej rozprawy.

Cel badań rozprawy doktorskiej zrealizowano przez porównanie lipidogramu pacjentów depresyjnych z grupą zdrowych ochotników, ocenę ważności różnic poszczególnych parametrów lipidogramu w kontekście związanych z nimi mechanizmów biochemicznych między tymi grupami oraz zastosowanie modelu prognostycznego dla zaburzeń depresyjnych opartego na tych zmianach.

Wykazane zmiany w stężeniu sfingomieliny, nasyconych fosfatydyloinozytoli, nasyconych sfingomielin, nasyconych ceramidów, nienasyconych estrów cholesterolu i kwasu eikozapentaenowego (grupa omega 3) we krwi pacjentów depresyjnych mają duże znaczenie poznawcze oraz duży potencjał diagnostyczny. Ponadto, zastosowany model prognostyczny w zasadzie spełnił oczekiwania przewidywania diagnozy depresji w zadowalającym stopniu.

Zaplanowanie i wykonanie badań oraz opracowanie wyników nie budzi zastrzeżeń i wskazuje na bardzo dobre przygotowanie (zarówno praktyczne jak i teoretyczne) i duży wkład pracy doktorantki. Warsztat pracy, odpowiedni dobór zastosowanych technik badawczych jest w pełni profesjonalny. Uzyskane wyniki zostały właściwie zaprezentowane i ocenione. Pragnę w tym miejscu zwrócić uwagę na dużą pracochłonność i czasochłonność wykonanych badań.

Na podstawie otrzymanych wyników, które doktorantka wnikliwie przeanalizowała, sformułowała wnioski, z którymi recenzent się zgadza. Według recenzenta jedną z ważniejszych obserwacji z punktu widzenia klinicznego jest potencjalna możliwość zastosowania prognostycznego modelu do oceny zmian wykazanych „markerów diagnostycznych depresji”.

W obowiązku recenzenta jest wykazanie wszystkich zaobserwowanych błędów oraz niejednoznacznych sformułowań.

Uwagi i pytania do doktorantki:

1. Str 22 – zdanie „Depression is a mood disorder that has been associated with structural and functional alterations of the hippocampus (Haase & Brown 2015; Gulbins et al. 2015).” sugeruje że tylko hipokamp jest miejscem, w którym występują zmiany patologiczne związane z depresją. Proszę o komentarz.
2. Str 23 – zdanie „Iproniazid blocks the re-uptake of both serotonin and noradrenaline to

- the nerve ending and **imipramine inhibits monoamine oxidase**, the main enzyme to metabolise these two neurotransmitters.” nieprawidłowo (pomyłkowo) opisano mechanizm iproniazydu i imipraminy.
3. Str 29 – w opisie inhibitorów MAO wpisano następujące zdanie: „...for example, iproniazid was primary developed to cure tuberculosis and **imipramine** was researched for its antihistaminic properties.” Imipramina jest dalej przypisana do grupy inhibitorów MAO.
 4. Str 30 – opis grupy trójcyklicznych antydepresantów zawiera tylko jedno zdanie „Tricyclic antidepressants (TCA) inhibit re-uptake of serotonin and/or noradrenaline transporters (O’Leary et al. 2015).” A dalej następuje opis “TCA’s inhibition of acid sphingomyelinase’s activity is one of **the most important mechanism of action** (Gulbins et al. 2015).....” sugerując, że jest to główny mechanizm działania TCA, podczas gdy jest to mechanizm wykazany także dla innych grup (np. selektywnych antydepresantów).
 5. Str 38 – zdanie: „Schizophrenia is another neurodegenerative disorder” mimo że w schizofrenii oraz w depresji znajduje się dowody na zmiany neurodegeneracyjne, zaburzenia te nie są zaliczane do typowych chorób neurodegeneracyjnych.
 6. Str 70 – “35 ill patients, 24 patients in remission”, “To validate and choose the best model a single blind trial study was conducted. The performance of each developed model was evaluated on a set of data from 41 patients that were of unknown status (ill/healthy).”, a na str 65 opisano, że pacjentów było 21 z nawracającym epizodem depresyjnym: “Group I: patients with recurring depression episodes; treated with selective serotonin re-uptake inhibitors (SSRI) or serotonin and norepinephrine reuptake inhibitors (SNRI) ; 21 participants”. Niezbyt klarowny opis grup badanych pacjentów.
 7. Str 70 – proszę także wyjaśnić powód do wydzielenia „For the purpose of model development and validation, the data was divided into two sets namely the test dataset (13 depressed patients + 11 healthy volunteers) and the blind-trial dataset (19 depressed patients + 14 healthy volunteers). Czy dane otrzymane od wszystkich pacjentów nie można było poddać analizie przy pomocy różnych modeli prognostycznych? Większa liczba pacjentów na grupę byłaby korzystniejsza dla statystyki.
 8. str 80 – zdanie „LPC levels in **the remission group** are similar to those in **the first-episode group** but lower than in chronic patients and higher than in healthy volunteers.” nigdzie w metodyce nie został opisany sposób (kryteria) wyodrębnienia grupy pacjentów w remisji i w czasie pierwszego epizodu depresyjnego.

9. Str 82 – zdanie: “Another visible trend within the dataset is that patients **with chronic depression** have higher lipid levels than the healthy.” Podobnie do poprzedniego pytania brak opisu charakteryzującego pacjentów z chroniczną depresją.
10. Str 82 – zdanie: “This would mean that **antidepressant treatment** causes an increase of lipids which should at some point decrease as participants in remission have similar lipid levels to the healthy volunteers.” i na str 100 – “On the other hand, the effect of **antidepressant therapy** should also be established.” Zdania te wskazują, że doktorantka zdaje sobie sprawę z ważności wpływu terapii przeciwdepresyjnej na te parametry. Dlaczego nie wykonano takich korelacji?
11. Ostatnie pytanie: dlaczego nie dokonano korelacji stężenia wybranych lipidów z punktacją skali Hamiltona (nasileniem depresji)?

Oczywiście te uwagi nie wpływają na moją ogólną wysoką ocenę merytoryczną niniejszej rozprawy.

Biorąc pod uwagę wartość poznawczą pracy, jej oryginalność oraz potencjalne implikacje w diagnostyce klinicznej uważam, że oceniana przeze mnie rozprawa spełnia wszystkie warunki wymagane dla pracy doktorskiej i przedstawiam Wysokiej Radzie Wydziału Chemii Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie wniosek o dopuszczenie mgr **Agathy Grela** do dalszych etapów przewodu doktorskiego.



Prof. dr hab. Gabriel Nowak