

Oponentský posudek disertační práce

Název disertační práce: Psychopathology, mental disorders and mitochondrial disorders

Autor: Ekaterina Sigitova, MD

Školící pracoviště: Psychiatrická klinika. 1.lékařská fakulta, Univerzita Karlova v Praze

Školitel: prof. MUDr. Jiří Raboch, DrSc.

Hlavním tématem předkládané disertační práce je poznání souvislostí mitochondriálních patofyziologických procesů s psychopatologickými příznaky u bipolární afektivní poruchy.

Práce má celkem 148 stran, z toho výzkumná část 44 stran a 437 číslovaných citací na 25 stranách. Dále práce obsahuje 7 stran příloh s dotazníky testových metod užitými ve výzkumném projektu a jejich citace. Disertační práce je napsána v anglickém jazyce.

První část disertační práce je tvořena všeobecným úvodem do problematiky afektivních poruch, jejich časné diagnostiky a prevence, klinického vyšetřování symptomů, terapeutických přístupů a patomorfologických mechanismů, které se podílejí na průběhu těchto nemocí, s důrazem na buněčné mechanismy, které se na tom dle různých teorií podílejí. Jsou zde shrnuty mitochondriální hypotézy vzniku poruch nálady. Zvláštní zřetel je zde věnován bipolární afektivní poruše (BPD), její etiologii, patogenetickým, biochemickým a environmentálním faktorům ovlivňujícím její vznik.

V druhé části disertační práce je přehledně zpracována publikovaná literatura, z které vycházely teoretické základy celé disertační práce. Její úvodní část je věnována mitochondriím, jejich struktuře, roli a funkcím v buňce. Následně je popsán

Krebsův cyklus jako základní součást buněčného dýchání. Navazuje popis oxidace mastných kyselin a karnitinového cyklu. Dále je zde popis transportu elektronů v respiračním řetězci a také oxidativní fosforylace a regulace syntézy ATP. Následná podkapitola je věnována shrnutí publikovaných informací o mitochondriální DNA a proteinech. Navazující je popis intracelulárních reaktivních forem kyslíku a mechanismů apoptózy spolu s mitochondriální teorií stárnutí. Další podkapitola popisuje mitochondriální patologii a mitochondriální onemocnění. Na ni navazuje stať o duševních nemocech a mitochondriální patologii. Následná kapitola je přehledem literatury o mitochondriálních dysfunkcích u poruch nálady. Zvláštní důraz je dále věnován i literárnímu přehledu genetického výzkumu mitochondriálních příčin poruch nálady. V přehledu východisek následuje souhrn ostatních biologických nálezů u BPD jako jsou strukturální změny zjištěných pomocí zobrazovacích metod a také neurotransmiterové hypotézy vzniku BPD. Další část popisuje roli neurotrofních faktorů v rozvoji BPD. Navazující podkapitola přináší literární přehled o léčbě poruch nálady a jejím vlivu na mitochondriální funkci.

V třetí části disertační práce je popsán záměr vlastní výzkumné části disertační práce a čtyři hlavní hypotézy.

Čtvrtá část disertační práce je věnována popisu vzorku pacientů a výzkumných metod. Zkoumaný soubor byl složen z 37 pacientů s diagnózou BPD dle MKN-10, kteří byli opakovaně testováni různými škálami popisujícími psychopatologii, a také jim byly dvěma odběry testovány krevní destičky. První odběr byl v akutní fázi onemocnění a druhý ve fázi remise. Kontrolní soubor byl složen z 21 zdravých dobrovolníků odpovídajících věkem a pohlavím, kterým byl proveden pouze jeden odběr krevních destiček. Vstupní kritéria byla definována tak, že všichni pacienti (hospitalizovaní i ambulantní) musí být léčeni pro BPD (alespoň pro druhou epizodu). Vstupně musí být v akutním stavu, jeden týden po hospitalizaci, ve věku 18-65 let s diagnózou BPD (F 31) a to manická fáze, depresivní fáze nebo remise. Vylučovacími kritérii byla další současná diagnóza z okruhu F10-F19, F20-29, F70-79, dále pak nadužívání psychoaktivních látek, organické postižení mozku, významné kognitivní postižení, anamnestický výskyt abusu jakýchkoliv léků, diagnostikovaná rakovina nebo jakékoliv neoplastické onemocnění v posledních třech letech, diagnostikované mitochondriální onemocnění a pravidelně užívané léky (coenzyme Q, L-carnitine, vitamin E, chloramfenikol, doxycyklin, ofloxacin, ciprofloxacin, perofloxacin, azathioprin, cyclosporin, tacrolimus, everolimus,

monoklonální protilátky, amiodaron, statiny, levomepromazin, haloperidol). Pacient se také nesměl účastnit studie s výzkumnými farmaky v posledních třech měsících.

Následuje popis dotazníkových metod a škál užitých v průběhu výzkumného projektu: Mood Disorder Questionnaire, Montgomery-Asberg Depression Rating Scale, Young Mania Rating Scale a Clinical Global Impression/Improvement.

Ve výzkumném projektu bylo použito vyšetření krevních destiček z odběru periferní krve pomocí mikroskopického počítání v komůrce. Dále byl testován energetický metabolismus spojený s mitochondriální dysfunkcí (vybrané mitochondriální parametry) a funkční změny v monoaminovém systému pomocí respirometrie s vysokým rozlišením, fluorescenčními, radiochemickými a spektrofotometrickými metodami.

Následující podkapitola přináší podrobný didakticko-statistický popis užitých statistických metod (parametrická a neparametrická analýza, faktorová analýza, jednocestná analýza rozptylu a lineární regresní analýza) pro zpracování jednotlivých skupin výsledků výzkumné části projektu, včetně jejich matematických vzorců.

Pátá část disertační práce popisuje výsledky výzkumného projektu. Klinické hodnocení a biochemické měření bylo prováděno u pacientů na počátku léčby a v době propuštění z hospitalizace při dosažení remise, nebo částečné remise.

V experimentálním vzorku bylo 24 pacientů s manickou epizodou a 13 pacientů s depresivní epizodou. Analýza neprokázala statisticky významný rozdíl ve věku mezi experimentální skupinou a kontrolní skupinou.

Pacienti s manickou epizodou byli testováni pomocí Brief Psychiatric Rating Scale, Young Mania Rating Scale (YMRS) a Mood Disorder Questionnaire. Pacienti s depresivní epizodou byli testováni pomocí Brief Psychiatric Rating Scale (BPRS), Montgomery-Asberg Depression Scale (MADRS) a Mood Disorder Questionnaire (MDQ). Pro pacienty v remisi byla přidána škála Clinical Global Impression/Improvement k měření klinického zlepšení. Pokles skóre na škále BPRS v akutní fázi a v remisi byl signifikantní jak u pacientů s manickou epizodou, tak u pacientů s depresivní epizodou. Také rozdíl skóre MADRS skupiny pacientů s depresivní epizodou v akutní fázi a v remisi byl statisticky signifikantní. U pacientů s manickou epizodou byl také prokázán signifikantní rozdíl na škále YMRS mezi akutní fází onemocnění a remisí. Výsledky mitochondriálních funkcí u pacientů s BPD v porovnání se zdravými kontrolami ukázaly významnou roli buněčné energetiky v patofyziologii BPD. Statisticky signifikantní rozdíl byl zjištěn v aktivitě

mitochondriální enzymu Complex IV v porovnání pacientů s manickou a depresivní epizodou. Také byl zjištěn signifikantní rozdíl v mitochondriální respiraci u parametru LEAK v akutní fázi pacientů s manickou epizodou v porovnání s kontrolní skupinou. Signifikantní rozdíl byl zjištěn i u parametru LEAK/ETSC, který byl vyšší u pacientů s manickou epizodou ve srovnání s kontrolní skupinou a také u pacientů s depresivní epizodou v porovnání s kontrolní skupinou. Ostatní porovnávané rozdíly nebyly signifikantní.

Při zjišťování vztahu mitochondriálních funkcí a psychopatologických příznaků byla prokázána statisticky signifikantní korelace mezi Complex I a BPRS skóre u pacientů s manickou symptomatikou v akutní fázi. Bylo zjištěno signifikantní snížení u kombinovaného faktoru (Faktor 2 – ETSC, PR), v porovnání pacientů s BPD a kontrolní skupinou a signifikantní zvýšení u kombinovaného faktoru (Factor 3 – DMP_(p), Oligomycin_(p), IR_(p)), v porovnání pacientů s BPD a kontrolní skupinou. Pomocí vícečetné lineární regrese byl prokázán signifikantní vztah mezi akutním stavem a remisí v závislosti na indikátorech mitochondriální patologie u pacientů s manickou epizodou. Pro pacienty s depresivní epizodou nebyl nalezen takový signifikantní model.

Šestá část disertační práce je věnována diskusi výsledků s aktuální publikovanou literaturou a současně i rozvíjí možný klinický dopad zjištěných faktů.

V sedmé části je závěrečné shrnutí a diskuse hypotéz výzkumného projektu. Zjištěnými výsledky výzkumného projektu se podařilo potvrdit Hypotézu I, Hypotézu II a Hypotézu IV. Výsledky nepotvrdili Hypotézu III. Výsledky výzkumného projektu ukazují vztah mezi psychopatologickými symptomy a mitochondriálními dysfunkcemi u pacientů s BPD.

K předložené disertační práci mám tyto otázky, připomínky a komentáře:

1. Charakteristika BPD v teoretické literární části postrádá popis typických psychopatologických obrazů jednotlivých epizod onemocnění, ke kterým se pak dále korelují biochemické nálezy mitochondriální dysfunkce
2. Pokud byli pacienti do výzkumného projektu zařazováni pouze z akutních oddělení Psychiatrické kliniky 1.LF UK a VFN, proč je ve vstupních kritériích zmiňováno „hospitalizovaní a ambulantní pacienti...“?
3. Chybí statistická analýza velikosti zkoumaného vzorku a kontrolní skupiny vzhledem k množství sledovaných parametrů
4. Vstupní kritéria pro experimentální skupinu jsou nepřesně definována (akutní stav, fáze mánie, deprese, remise), není popsána závažnost epizod
5. Vylučovací kritéria pro experimentální skupinu jsou zčásti zdvojena (přidatná diagnóza F10-F19 v.s. nadužívání psychoaktivních látek)
6. Vylučovací kritéria pro experimentální skupinu jsou nepřesně definována (významné kognitivní postižení)
7. Nejsou definována vstupní ani vylučovací kritéria pro kontrolní skupinu
8. Ve výzkumné části chybí zdůvodnění a popis užití škály BPRS, která se posléze objeví ve výsledkové části
9. Proč je popis užitých statistických metod tak didakticky extenzivní, včetně matematických vzorců výpočtů jednotlivých metod?
10. Chybí analýza demografických dat (pohlaví atd.) u experimentální skupiny i kontrolní skupiny s výjimkou věku
11. Nepřesný popis užití i výsledků škály CGI-I
12. Minimální popis designu výzkumného projektu a náboru pacientů
13. Vhodné by bylo vyšetřit všechny členy kontrolní skupiny pomocí dotazníků MDQ a BPRS
14. Není uvedena definice remise u jednotlivých epizod BPD
15. Vhodné by bylo doplnit zhodnocení délky léčby (resp. doby do dosažení remise) a současně také analyzovat užitou léčbu
16. Není zřejmé proč byl využíván dotazník MDQ experimentální skupiny vzhledem k tomu, že ve vstupních kritériích je definováno, že se jedná o pacienty s BPD (F 31.xx) dle MKN-10 a dotazník MDQ patří mezi nástroje primární péče pro vyhledávání pacientů s BPD
17. V mnoha pasážích disertační práce chybí správná interpunkce

Téma předložené disertační práce je aktuální a velmi zajímavé, ale předložený způsob a forma zpracování projektu jsou nevyvážené, neuspořádané a vzhledem ke zmíněným metodologickým a koncepčním nepřesnostem, pak výsledky a jejich interpretace působí rozpačité a nepřesvědčivé.

Dle mého názoru, pouze pokud Ekaterina Sigitova, MD uspokojivě doplní a vysvětlí výše zmíněné nedostatky v předložené verzi disertační práce, bude to možno považovat za dostatečný průkaz předpokladů autorky k samostatné tvořivé vědecké práci a k udělení titulu Ph.D., jelikož jinak splnila všechna požadovaná prezenční a publikační kritéria.

V Praze dne 14.9.2017

as. MUDr. Pavel Doubek, Ph.D.
Psychiatrická klinika Všeobecné fakultní nemocnice
a 1.lékařské fakulty Univerzity Karlovy
Ke Karlovu 11
120 00 Praha 2
e-mail: pavel.doubek@vfn.cz
Tel.: 603330530