

## **Oponentský posudek na disertační práci RNDr. Marcely Vedralové**

### **„Některé molekulární mechanizmy kalcium-fosfátového metabolismu u diabetu mellitu“**

Disertační práce RNDr. Marcely Vedralové byla vypracována v rámci doktorského studijního programu Molekulární biologie, genetika a virologie na 3. lékařské fakultě Univerzity Karlovy. Hodnocená výzkumná práce má celkem 98 stran a 18 stran dvou příloh, její odborná struktura a ediční uspořádání jsou v souladu s požadavky na kvalitu a ediční strukturu doktorských disertačních prací na Univerzitě Karlově.

Úvodní kapitola (Literární přehled, str. 14–42) je všeobecným referátem o epidemiologii, klasifikaci, diagnostice a komplikacích diabetu mellitu (DM) a dále je s ohledem na téma disertace zaměřena na výklad podstatných funkcí a poruch metabolismu vápníku a fosfátu při DM. Tento literární přehled je systematicky uspořádán, racionálně stylizován a zejména vhodně zdůrazňuje (pro autorkou prováděné výzkumy) nezbytné vybrané aspekty dosud publikovaných poznatků o DM. Poměrně závažným edičním nedostatkem je však okolnost, že v úvodu této disertační práce zcela chybí kapitola se stručným vysvětlením podstaty tématického okruhu, odborné zdůvodnění výběru specifického tématu a cílů výzkumu. Druhá část kapitoly „Literární přehled“ (cca od str. 23) sice k tomuto zdůvodnění koncepčně směřuje (s jasným vyjádřením až na str. 40–41), výše uvedené definice výzkumných témat by však měly být zdůrazněny ještě před kapitolou, která se zabývá poměrně rozsáhlým literárním přehledem poznatků o DM. Cíle převážně experimentální práce jsou shrnuty ve 2. kapitole na str. 43, a to pouze v podobě stručného sdělení o poměrně rozsáhlém výzkumném projektu.

Stručnost je také charakteristickým rysem 3. kapitoly (str. 44–54) o používaném materiálu, počítačových programech, vzorcích pacientů a sledu pracovních postupů. Nejen u této metodologické kapitoly, ale pro celou disertační práci je vhodné zdůraznit schopnost autorky výstižně a stylisticky korektně popsat průběh, výsledky výzkumů a jejich širší odborný kontext. Navíc je tiskových překlepů (např. str. 46 / střed: „představována“; str. 76 / ř. 7 shora: „polymorfizmu“) a podobných nedopatření (např. proč se na str. 47 opakují dvě stejné věty na konci podkapitol 3.4.2 a 3.4.3; špatně čitelné jsou černobílé obrázky 9 až 12; na titulní straně disertace chybí jméno autorky) velmi málo.

Hlavní výsledky disertační práce jsou uvedeny ve 4. kapitole (str. 55–67) a v širším odborném kontextu jsou precizně diskutovány v 5. kapitole (str. 68–75). Závěrečná kapitola na str. 76 je pouze velmi stručným souhrnem výsledků výzkumu. V úvodním odstavci Závěru by bylo vhodné zdůraznit také tvůrčí cíle práce (jak jsou např. uvedeny v Abstraktu na str. 5)

a případně naznačit – zde nebo již v diskuzi – konkrétní záměry při pokračování dosud provedených výzkumů molekulárních mechanismů metabolismu u DM.

Výzkumné cíle hodnocené disertační práce (definované na str. 43) byly nesporně dosaženy.

Komplexním výzkumem bylo systematicky zjišťováno, do jaké míry polymorfizmy v genech pro receptor vitamínu D (*VDR*), parathormonu (*PTH*) a kalcium citlivého receptoru (*CASR*) jsou spojeny s rizikem rozvoje DM a jeho ledvinových komplikací. Proteinové produkty těchto genů významně ovlivňují kalcium-fosfátový metabolismus a podílejí se tedy jak na patogenezi DM, tak na poškození ledvin. Autorka disertační práce uvádí zejména následující pozitivní, resp. statisticky významná zjištění a specifické poznatky dosažené experimentálními výzkumy v rámci tohoto projektu:

- polymorfizmus *FokI* genu *VDR* je rizikový pro rozvoj DM 1. typu a diabetické nefropatie; (alela *F* je predispoziční pro rozvoj diabetické nefropatie); dá se usoudit, že alely *F*, *B* a *D* jsou také predispoziční pro rozvoj diabetické retinopatie?
- polymorfizmus *BstBI* genu *PTH* je predispoziční pro rozvoj diabetické nefropatie; (alela *B* je predispoziční pro rozvoj diabetické nefropatie);
- polymorfizmus *Drall* genu *PTH* je predispoziční pro rozvoj DM a jeho ledvinových komplikací; (alela *D* je predispoziční pro rozvoj DM a jeho ledvinových komplikací);
- haplotyp *BBFFAATt* genu *VDR* je u pacientů s diabetickou nefropatií zastoupen častěji, než u zdravé kontrolní skupiny osob;
- haplotyp *BbFFAaTt* genu *VDR* je predispoziční pro rozvoj diabetické neuropatie a u pacientů s DM 2. typu je zastoupen častěji, než u zdravé kontrolní skupiny osob;
- haplotyp *bbDd* genu *PTH* má projektivní účinek před rozvojem diabetické neuropatie a DM;
- haplotyp *BBDD* je pravděpodobně predispozičním faktorem pro rozvoj diabetické neuropatie a DM; (haplotyp *BBDD* tedy nelze využít v prediktivní diagnostice rozvoje ledvinových komplikací u DM);
- polymorfizmus *rs3804594* genu *CASR* je rizikovým faktorem pro rozvoj DM, jeho ledvinových komplikací, ale pravděpodobně i nediabetického selhání ledvin;
- polymorfizmus *rs7652589* genu *CASR* je predispoziční pro rozvoj DM 1. typu.

Dosažené výsledky výzkumu jsou založeny na interpretaci poměrně robustního souboru analytických údajů a jejich statistického zpracování (srv. zejména kap. 4). Kvalita získávání nezbytných údajů a systémového uspořádání datových souborů je podmíněna důsledným mezioborovým a koncepčně promyšleným metodologickým přístupem k provedené výzkumné práci. Z nezbytně pravděpodobnostního charakteru zvolených

statistických metod vyplývá rozmanitost výpovědní hodnoty (významnosti) dílčích zjištění a jejich diskutované genetické interpretace. V přehledných tabulkách 15 až 19 jsou převážně prezentovány pouze statisticky významné korelace a tabulky s ostatními statistickými údaji a/nebo kombinacemi genotypů, atd. nebyly do této části práce zařazovány (autorka zmiňuje na str. 59 „z důvodů přehlednosti“). Zveřejnění statisticky méně významných (neprůkazných etc.) mohou však být také zajímavým podkladovým materiálem. Tuto skutečnost o datových souborech lze velmi dobře dokumentovat na příkladu přehledných tabulek 20 až 25 a také obrázků v kapitole 4.2, která se zabývá celkovou analýzou zjištěných údajů o genotypizaci polymorfizmů genu *CASR*.

Zvláštní pozornost si zasluhuje kapitola „Diskuze“ (str. 68–75), v níž jsou korektně vyhodnocovány statistické výsledky a dílčí interpretace provedených genotypizací polymorfizmů *VDR*, *PTH* a *CASR*, soustředěné zejména v kap. 4 a obou přílohách práce. Tato zasvěcená diskuze dokumentuje složitost využívání biologických (v užším slova smyslu pak genetických) přístupů a zákonitostí v experimentálním a klinickém lékařství. Základním rysem tohoto mezioborového přístupu k řešení zvolené problematiky je totiž důsledná integrace znalostí několika specializací ve všech etapách výzkumné práce, např. tedy od výběru základních parametrů (včetně stanovení počátečních podmínek a klíčových proměnných veličin) přes analytické a interpretační etapy víceoborových výzkumů až k identifikaci klinicky nesporně signifikantních predispozičních a rizikových faktorů u sledovaných onemocnění.

Metodologické a interpretační limity provedeného výzkumu jsou v diskuzi výstižně popsány. Poruchy metabolismu glukózy, vápníku a fosfátu u DM jsou součástí komplexního charakteru tohoto onemocnění. Interpretace genetických analýz jsou (nejen) z tohoto důvodu poměrně obtížné a vyžadují proto důsledné korelace s dalšími studii v celosvětovém měřítku. V diskuzi disertační práce je provedeno porovnání výsledků provedených výzkumů s dosud publikovanými poznatky v odborné literatuře, včetně stručných, avšak z výzkumného hlediska podnětných komentářů. Pozoruhodná je v tomto ohledu např. úvaha o možných důvodech a interpretaci faktu, že u kontrolní skupiny zdravých pacientů nebyl nalezen žádný CC genotyp (viz str. 71). Diskusní podkapitola „Kalciové a kaliové kanály v sekreci inzulinu“ (str. 72–75), která se zabývá zejména genetickými aspekty variabilní dynamiky metabolických procesů glukózy, draslíku a vápníku ve vztahu ke vzniku a rozvoji DM, je založena na vyhodnocení poznatků četných citovaných prací.

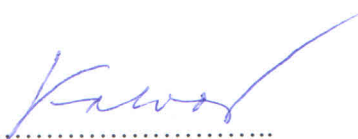
Z popsaných odborných aspektů komplexně pojaté diskuze vyplývá oponentní otázka pro autorku, a to při obhajobě disertace podrobněji vysvětlit, jak se hlavní výzkumné výsledky

této práce uplatňují nebo mohou uplatnit při optimalizaci prevence, diagnostiky a léčby DM v klinické praxi a s tímto onemocněním spojených závažných komplikací.

Literatura (217 položek, str. 77–97) je zpracována velmi pečlivě, pouze není zřejmé, proč jsou publikované práce v seznamu literatury číslovány, když jsou citace prací v textu této disertace uváděny výhradně jménem autorů a rokem vydání publikací?

Přílohami hodnocené disertace jsou dva reprinty odborných článků, které byly publikovány v časopisu „Kidney and Blood Pressure Research“ (2012 a 2014, v obou případech se jedná o tým šesti autorů, včetně M. Vedralové), a to s podstatným vztahem k tématu a výsledkům této práce – viz zejména její kap. 4. 1 a 4. 2. V průběhu obhajoby disertace bude tedy vhodné upřesnit vlastní tvůrčí podíl M. Vedralové na výzkumných výsledcích odborného týmu, jehož pracovníci jsou jmenovitě uvedeni v obou přílohách.

**Hodnocenou disertační práci RNDr. Marcely Vedralové doporučuji k obhajobě v oboru Molekulární biologie, genetika a virologie na 3. lékařské fakultě Univerzity Karlovy.**



.....

Doc. MUDr. Bohdana Kalvodová, CSc.

V Praze, 12. ledna 2020