

OPONENTSKÝ POSUDOK

Dizertačnej práce

RNDr. Petra Dušátková

GENETIKA MODY DIABETU

Formálna charakteristika dizertačnej práce:

Dizertačná práca je napísaná na 123 stranách vrátane 7 *in extenso* publikácií (z toho dve v recenznom konaní), ktoré všetky majú vzťah k študovanej problematike a tvoria tak základ práce. Dizertačná práca je rozdelená na šesť častí: Úvod, Literárny prehľad (strany 9-39), Zhrnutie genetického vyšetovania (strany 39-41), Vlastné publikácie a rukopisy s komentármi (strany 41-95), Záver (strany 95-96), Zoznam citovanej literatúry (strany 98-123).

Obsahová charakteristika diela:

Aktuálnosť zvolenej témy: Etiopatogenéza diabetu a jeho rôznych podtypov je predmetom intenzívneho vedeckého bádania už niekoľko desaťročí. V oblasti monogénového diabetu sme svedkami výrazného prísunu vedeckých poznatkov, ktoré prinášajú nielen poznanie v oblasti molekulárnej podstaty tohto ochorenia, ale definujú aj jeho kauzálnu liečbu. Preto považujem dizertačnú prácu za vysoko aktuálnu.

Metódy spracovania: Zvolené metodické postupy vzhľadom na študovanú problematiku genetiky monogénového diabetu sú na štandardnej medzinárodnej úrovni. V dizertačnej práci sa využívajú najmä techniky dHPLC, priameho obojsmerného sekvenovania, RT-PCR, haplotypová analýzy, pričom oceňujem využitie štatistických nástrojov využívajúcich demografické údaje za účelom identifikácie a odhadu pravdepodobného veku ancestrálnych mutácií. Pri charakterizácii pacientov pokladám za potrebné vyzdvihnúť najmä rozsah súboru pacientov s monogénovým diabetom (1613 osôb z 591 rodín) čo je výsledkom niekoľkoročnej snahy pracovníkov 2. LF UK v oblasti vyhľadávania českých rodín s monogénovým diabetom.

Výsledky dizertačnej práce sú zhrnuté v 7 *in extenso* publikáciách, ktoré sú uvedené krátkym komentárom a týkajú sa nasledovnej problematiky:

1. GCK-MODY je najčastejším subtypom českého MODY registra
2. Efekt zakladateľa prevalentných mutácií v GCK
3. HNF1A-MODY s makrozómiou a hypoglykémiou
4. Analýza génu PAX4 u českých MODYX
5. Mutácia v géne ABCC8 spôsobujúca hyperglykémiu

6. Makrovaskulárne komplikácie u GCK-MODY

7. Modifikátor GCK-MODY

Úroveň publikácií: Súbor predkladaných *in extenso* prác je ťažiskovo uverejnený v časopise *Pediatric Diabetes*, ktorý má priemerný 5-ročný impakt faktor 2.638, čo je z hľadiska náročnosti na naplnenie scientometrických kritérií pre udelenie PhD na Karlovej Univerzite predpokladám dostačujúce. Nedá mi však nepovedať, že istou ozdobou na súbore týchto prác by bolo bývalo uverejnenie aspoň jednej publikácie vo vyššom impakte napr. v časopise *Diabetologia* (priemerný 5-ročný IF=6.227). Toto tvrdenie samo o sebe zásadným spôsobom neznižuje význam predkladaných publikácií, ide o vecné konštatovanie, ktoré by malo pani RNDr. Petru Dušátkovú pozitívne motivovať k ďalším ešte kvalitnejším výkonom v jej vedeckej kariére.

Vedecký prínos práce pre ďalší rozvoj vedy:

Za najvýznamnejší vedecký výsledok predloženej dizertačnej práce považujem účasť doktorandky na zmapovaní monogénových foriem diabetu v Českej Republike, ktoré identifikovalo GCK-MODY ako najčastejší typ monogénového diabetu. Práve identifikácia mutácií v analyzovaných génoch je jedinou možnosťou ako potvrdiť klinické podozrenie na monogénový diabetes a je nevyhnutná pre farmakogenetickú úpravu liečby. Od toho sa odvíja ochrana zdravia a zlepšenie kvality života pacientov. Druhým zaujímavým výsledkom je štúdium efektu zakladateľa prevalentných mutácií v géne pre glukokinázu, ktoré dokázalo, že 3 zo 4 študovaných mutácií vznikli vďaka efektu zakladateľa a následne sa podarilo odhadnúť pravdepodobný vek ancestrálnych mutácií. Tieto výsledky prispievajú aj k špecifickému poznaniu v oblasti populačnej genetiky v Českej republike.

Podnety a otázky:

K obsahovej stránke prekladanej dizertačnej práce mám niekoľko pripomienok a otázok.

1. Kapitola 2.2.2. strana 10 posledný odstavec: Autorka uvádza že, „približne 5 % DM je monogénového pôvodu (Barrett 2001)“ táto citácia nie je aktuálna, novšie práce poukazujú na výskyt monogénového diabetu okolo 1-2% (napr. Murphy et al. *Nat. Clin. Pract. Endocrinol. Metab.* 4. 200 -213, 2008).
2. Kapitola 2.2.2. strana 11. prvá veta „*Dalšími subtypy monogenního diabetu jsou neonatální diabetes, mitochondriální diabetes a další syndromy*“. Uvedené rozdelenie monogénového diabetu je nepresné, nejedná sa o rozdelenie ani podľa ADA ani podľa Murphyovej (Murphy R et al. 2008, *Clinical implication of a molecular genetic classification of monogenic beta-cell diabetes. Nat. Clin. Pract. Endocrinol. Metab.* 4. 200 - 213) a ani podľa ISPAD „guidelines“.

3. **Kapitola 2.2.2. strana 11 prvý odstavec** „*Britská studie (Shield, 1997) v zhode s nemeckou studii (von Muhlen Dahl, 1995) stanovily incidenci neonatalniho diabetu na 1 z 400 000 žive narozených detí*“. **Údaje o incidencii neonatálneho diabetu uvádzané v dizertačnej práci sú zastaralé. Incidencia len permanentného neonatálneho diabetu sa v súčasnosti odhaduje na približne 1: 215 000 (Stanik J, et al. Prevalence of permanent neonatal diabetes in Slovakia and successful replacement of insulin with sulfonylurea therapy in KCNJ11 and ABCC8 mutation carriers. J Clin Endocrinol Metab. 2007 Apr;92(4):1276-82.). Tieto údaje získané na Slovensku boli neskôr potvrdené aj ďalších štúdiách z Talianska (Russo L., Diabetologia 2011) a Rakúska (Wiedemann, Pediatr. Diabetes, 2011), ktoré potvrdili vyššiu incidenciu neonatálneho diabetu .**
4. **Kapitola 2.2.2 strana 11 prvý odstavec autorka uvádza, že heterozygotné mutácie KCNJ11 tvoria 1/3-1/2 pacientov s PNDM pričom sa cituje práca Polak 2004. Jedná sa však o prehľadový článok, pričom vyšla najväčšia štúdia v tomto ohľade, a to Edghill et all. Diabetes. 2008 Apr;57(4):1034-42.**
5. **Kapitola 2.3.2 strana 13. Autorka udáva, že MODY charakterizuje autozomálne dominantný typ dedičnosti a vek začiatku do 40 rokov. Chýba tam citácia k uvedenému fakt, pretože ostatné diagnostické „guidelines“ hovoria o nižšom veku (cca 25 rokov). Ak sa tento údaj však neberie ako kritérium na diagnostiku je to číslo zas veľmi nízke . Prosím komentár.**
6. **Kapitola 2.3.2 strana 14. Autorka uvádza, že doposiaľ bolo popísaných 12 podtypov MODY diabetu a zároveň v autoreferáte str. 7 druhý odstavec je uvedené, že doteraz bolo identifikovaných 9 podtypov. Prosím o komentár.**
7. **Kapitola 2.4.2 strana 19. druhý odstavec. Pri popise mechanizmov akým heterozygotné mutácie v géne pre glukokinázu spôsobujú hyperglykémie je potrebné citovať prácu (Osbak et al Update on mutations in glucokinase (GCK), which cause maturity-onset diabetes of the young, permanent neonatal diabetes, and hyperinsulinemic hypoglycemia. Hum Mutat. 2009 Nov;30(11):1512-26. Review), kde v tabuľke 2 je uvedený prehľad funkčnej charakterizácie vyše 70 mutácií génu pre glukokinázu s následným vysvetlením mechanizmu jej pôsobenia. Citovanie 4 mutácií nie je postačujúce. Okrem toho, medzi ďalší mechanizmus spôsobujúci hyperglykémie u GCK-MODY pacientov je aj znížená promótorová aktivita v dôsledku pre alelu špecifickej straty väzby transkripčného faktora SP1 v promótorovej oblasti DNA glukokinázy (Gasparíková D, et al. Diabetes. 2009 Aug;58(8):1929-35).**
8. **Kapitola 2.5.1. Str. 21 prvý odstavec. „Zvýšená hladina HDL-cholesterolu je ďalším znakom pozorovaným u onemocnení HNF1A-MODY (Pearson 2003)“.** Citácia Pearson je nepresná (nezaoberá sa definovanou problematikou). Prosím uviesť správnu citáciu. Treba pripomenúť, že práca publikovaná vo februári 2012 (predpokladám po odovzdaní dizertačnej

práce) poukazuje, že plazmatický lipidový profil u HNF1A-MODY pacientov sa nelíši od zdravých nediabetických jedincov. Na druhej strane HDL-Cholesterol bol vyšší u HNF1A-MODY v porovnaní s DM2 pacientmi, čo by mohlo byť považované za istý klinický biomarker identifikácie HNF1A-MODY pacientov. (McDonald TJ et al. Lipoprotein composition in HNF1A-MODY: Differentiating between HNF1A-MODY and Type 2 diabetes. Clin Chim Acta. 2012 May 18;413(9-10):927-32. Epub 2012 Feb 14.). Ďalším klinicky dostupným a cenovo nenáročným biomarkerom na odlišenie HNF1A-MODY od ostatných typov diabetu sa zdá byť hsCRP, ktorý je u HNF1A-MODY pacientov znížený (Thanabalasingham G, et al. A large multi-centre European study validates high-sensitivity C-reactive protein (hsCRP) as a clinical biomarker for the diagnosis of diabetes subtypes. Diabetologia. 2011 Nov;54(11):2801-10. Epub 2011 Aug 4).

9. Smery ďalšieho výskumu sú načrtnuté na strane 96. Aké konkrétne postupy by ste zvolili pri hľadaní nových MODY génov v skupine českých rodín s klinickou charakteristikou MODY, ale bez mutácie v doteraz známych génoch?
10. Pri identifikácii 376 osôb s GCK-MODY a 96 jedincov s HNF1A-MODY, aká je úspešnosť zmeny liečby pri týchto dvoch špecifických podtypoch monogénového diabetu v Českej republike?

Zhodnotenie a záver:

Predložená dizertačná práca je výsledkom série monotematických publikácií v oblasti monogénového diabetu. Je jednoznačne pozitívne, že doktorandka okrem 5 *in extenso* publikácií, ktoré tvoria jadro dizertačnej práce, je autorkou/spoluautorkou aj ďalších 5 *in extenso* publikácií s impakt faktormi od 2.18-4.89 a ktoré sa zaoberajú genetickým aspektom Crohnovej choroby. Určitým jemným nedostatkom sú menšie obsahové nezrovnalosti sprievodného textu dizertačnej práce. Napriek tomu dizertačná práca dokazuje, že RNDr. Petra Dušátková je vyhranená osobnosť v oblasti štúdia genetických aspektov monogénového diabetu, ktorá pracuje v kvalitnom tíme s bohatými skúsenosťami genetiky monogénového diabetu, čo je zárukou ďalšieho vedeckého rastu menovanej.

Predložená dizertačná práca spĺňa formálne aj obsahové atribúty, preto odporúčam RNDr. Petre Dušátkovej udeliť vedecko-akademickú hodnosť „*Philosophiae Doctor*“.

Bratislava 30. marca 2012

Mgr. Daniela Gašperíková, CSc.