

OPONENTSKÝ POSUDEK DIZERTAČNÍ PRÁCE V DOKTORSKÉM STUDIJNÍM PROGRAMU  
BIOCHEMIE A PATHOBIOCHEMIE NA 1. LFUK V PRAZE

**Název práce:** Velikost jednotlivých lipoproteinových částic u různých patologických stavů

**Autor:** MUDr. Magdaléna Dušejovská, IV. Interní klinika 1.LFUK Praha

**Školitel:** Prof. MUDr. Aleš Žák, DrSc.

Dizertační práce má rozsah 90 stran (bez příloh) a je standardně rozdělena na ÚVOD, CÍL PRÁCE, MATERIÁL A METODY, VÝSLEDKY, DISKUZE a ZÁVĚR. Seznam literatury odpovídá předepsaným normám. Zkratky jsou vysvětleny v seznamu na konci textu.

Autorka si vzala za cíl sledovat velikost lipoproteinových částic u dvou patologických stavů se známým zvýšeným kardiovaskulárním rizikem: 1) u pacientů s metabolickým syndromem po intervenci omega-3 MK a 2) u pacientů s ESRD chronickém dialyzačním programu vstupně a po 5 letech.

Práce je logicky a přehledně členěná na části věnující se jednotlivým zkoumaným patologickým stavům. Autorka prokázala, že má patofyziologii a patobiochemii dyslipidémie v obou případech detailně prostudovanou. Problematika suplementace n-3 PUFA u metabolického syndromu či diabetu stejně tak jako i odchylky v metabolismu lipoproteinů v ESRD nebyly doposud uspokojivě vyřešena a je tudíž záslužné, že se dr. Dušejovská zaměřila právě na tyto významné rizikové stavy. Práce vznikla na pracovišti, jehož tým dosáhl ve výzkumu lipidového metabolismu a aterosklerózy mezinárodního věhlasu a je tak zárukou kvality vědeckých aktivit probíhajících na jeho půdě. Velice cenné jsou možnosti stanovení profilu mastných kyselin ve fosfolipidech, triacylglycerolech a cholesterolových esterech. K analýze lipoproteinových subfrakcí autorka použila vysokoúčinné diskontinuální elektroforézy „Lipoprint“, která přináší mj. řadu doplňujících informací o zastoupení aterogenních lipoproteinů v plazmě a mohla by se v brzké době dočkat i širšího klinického uplatnění.

K práci mám následující připomínky:

Úvod – strana 7, 2.odst.: Mortalita na CVD v celé Evropě, tzn. i střední a východní) klesá (2012 European Cardiovascular Disease Statistics).

Úvod – strana 8: V případě citací *Catapano et al. 2011* a *Catapano et al.2016* – by bylo vhodné uvést, že se jedná o ESC/EAS guidelines.

Kapit. 2.1 Lipoproteiny, apoproteiny a jejich klinický význam, Tab 1: Částice HDL<sub>3</sub> nejsou větší než HDL<sub>2</sub>, jde pravděpodobně jen o záměnu textu. Pro snazší pochopení by však bylo vhodné, kdyby Tab. 1, Tab. 2 a Obr. 2 spolu korespondovaly, pokud se týká lipoproteinových subfrakcí. Dále by i zde stálo za to uvést, že nascentní HDL tvořené zejména v játrech a ve střevě se nazývají preβ HDL, jelikož se o nich pak dále hovoří v textu.

Kapit. 2.1 strana 8, konec odst.: Tvzení, že molekula Lp(a) je homologní s plazminogenem, je nepřesné. Jde pouze o specifické úseky apoproteinu (a).

Kapit. 2.2. strana 12: text pod obrázkem se vztahuje k Obr. 4 na straně 13, pro větší přehlednost by bylo dobré, kdyby obrázek i text byly na stejné straně. Vlastní popis metabolismu VLDL-IDL-LDL je neúplný, chybí zmínka o internalizaci části IDL v játrech a dále popis funkce jaterní lipázy.

Kapit. 2.2. strana 13: text pod obrázkem se vztahuje k Obr. 5 na str.14. Popis reverzního transportu cholesterolu je poněkud zjednodušený, výměna cholesterolu mezi VLDL a HDL částicemi je s ohledem k tématu této práce zmíněna jen okrajově. V souvislosti s ní je čtenář odkazován na Obr. 5, avšak v textu pod obrázkem je uvedeno, že výměny mezi HDL a VLDL (IDL, LDL) nejsou v obrázku znázorněny.

Kapit. 3.2.4. str.25: ř. 23: Věta „Jak bylo potvrzeno izotopovými studiemi...“ Ve druhé části věty mělo nejspíše být, že k přesunu cholesterolového esteru z HDL do lipoproteinů obsahujících apo B významně dochází při inzulínové rezistenci.

Kapit. 3.2.4. str.27, Obr.7: ze schématu není zřejmé, že sdLDL vznikají z VLDL<sub>1</sub>. V obrázku i v příslušném textu na straně 26 by stálo za to zmínit, že při inzulinové rezistenci je aktivita hepatální lipasy přímo upregulována.

Kapit. 3.3. K ucelenému pohledu na tuto problematiku zmínit, že kardiovaskulární mortalita může být u pacientů s ESRD také podmíněna úmrtím na kardiální selhání a maligní arytmie i bez přítomnosti významné koronární aterosklerózy.

Kapit. 3.3.5. str. 31, Obr.8: Zde bych pouze zvýraznil nebo naznačil, že tím klíčovým dyslipidemickým faktorem u CKD je právě pokles aktivity LPL (Vaziri ND, Am J Renal Physiol 2006)

Kapit.3.5.5. Dyslipidémie spojená s ESRD: Stálo by za to zmínit, že dyslipidémie u renálního selhání se vyvíjí od CKD bez proteinurie přes CKD s proteinurií až do ESRD.

Kapit. 3.5.5. str. 32, ř. 2: Kauzální vztah hyperhomocysteinémie k ateroskleróze nebyl jednoznačně doložen.

Kapit. 4. Cíle práce. Byly stanoveny nějaké základní pracovní hypotézy?

Kapit. 5.1.1. str. 34: Probandi se dělí na statinovou a nestatinovou skupinu. Pokud je to z toho důvodu, že statiny zhoršují inzulinovou senzitivitu, mělo by to být v metodách uvedeno.

Kapit. 5.1.1. str. 34: Není jasné, proč tzv. placebo obsahovalo ze 75 % kyselinu olejovou. Takto se jednalo spíše o srovnání suplementace pomocí n-3 PUFA vs. MUFA.

Kapit. 5.1.1. str. 35, poslední odstavec: Pro úplnost by bylo vhodné doplnit, že žádný proband neužíval další léky, které by mohly ovlivňovat metabolismus glukózy a lipidů: PAD, betablokátory, thiazidová diuretika aj.

Kapit. 6.1. Výsledky. Metabolický syndrom. U všech sledovaných parametrů by se měly porovnávat konečné hodnoty oproti baseline hodnotám na začátku sledování a zjistit, k jakým změnám došlo, a to zvláště v intervenované a v placebové větvi. Teprve tyto změny by se pak měly porovnávat mezi sebou. V práci jsou však srovnávány absolutní hodnoty obou větví jen na konci sledování.

Kapit. 6.1. Graf 1, 2, str. 47: Jelikož si práce vzala za cíl studovat velikost lipoproteinových částic, bylo by vhodné dokumentovat přímo koncentrace jednotlivých frakcí a subfrakcí zjištěných pomocí diskontinuální gelové elektroforézy. Autorka prezentuje pouze relativní rozložení cholesterolu ve VLDL, IDL, velkých LDL a malých LDL. Ideální by však bylo, kdyby v jednom grafu bylo znázorněno rozložení cholesterolu ve všech měřených lipoproteinových subfrakcích před a po skončení intervence.

Kapit. 6.1. str. 46: poslední věta. Ukazatele inzulinové rezistence by vzhledem k tématu bylo dobré pro úplnost ve výsledcích uvést.

Kapit. 6.1., Tab. 9a, str. 48: Hodnoty TAG se neshodují s koncentracemi uvedenými v publikaci, zřejmě došlo k omylu při přepisu.

Kapit. 6.1. Tab. 10a: To, že pokles TAG po léčbě pozitivně koreloval s koncentrací TAG před léčbou, ale nebyl závislý na vzestupu plazmatické koncentrace PUFA n-3, je zajímavé a stálo by za to, zdůraznit v závěru.

Kapit. 6.2. Terminální selhání. Není zcela jasné, proč nebyla jako kontrolní skupina vybrána kohorta jedinců běžné zdravé populace.

Kapit. 6.2. Graf 3, 4, 5, 6, 7, 8: Podobně jako ve studii s n-3 PUFA by bylo s ohledem na název práce dobré uvádět koncentrace jednotlivých lipoproteinových tříd, tedy koncentrace podle velikosti částic. Stejně tak rozložení cholesterolu v měřených lipoproteinových třídách na začátku a na konci sledování by bylo velice názorné.

Kapit. 7. Diskuze, str. 66, 3.odst., řádek 9: Pro velkou heterogenitu velikosti částic Lp(a) se dnes doporučuje používat analytické metody umožňující stanovení jejich koncentrace v mmol/l.

Kapit. 7. Diskuze, str. 66, 3.odst., posl. řádek: Toto tvrzení je trochu problematické. Zatím se nepodařilo prokázat, že by snižování Lp(a) vedlo i ke snížení KV rizika.

Kapit. 7. Diskuze, str. 66, 4.odst., 4. řádek: Otázka n-3 PUFA a oxidačního stresu je stále velmi diskutována. Např. v práci *Isuduki et al. (Nutrition 2011; 27(3): 334-337)* došlo naopak k jeho zvýšení.

Kapit. 7. Diskuze. Terapie statiny u skupiny s HV-HDF, str. 69, 1.odst.: Zde se myslí asi účinek statinů na sdLDL.

Kapit. 7. Diskuze. Terapie statiny u skupiny s HV-HDF, str. 69, řádek 6: Citace *van den Akker et al. 2003* není zcela přesná. V článku se praví, že atorvastatin i simvastatin snižují LDL-cholesterol ve všech LDL subfrakcích.

Kapit. 7. Diskuze. Analýza po 5 letech, str. 70, 1.odst.: Do diskuze by bylo vhodné doplnit, že výsledky mohly být také ovlivněny základním onemocněním vedoucím k ESRD a efektem dalších léků kromě statinů.

**Závěr:** MUDr. Magdaléna Dušejovská prokázala, že je schopna samostatné vědecké práce. Získané výsledky prezentovala ve formě 2 originálních sdělení v mezinárodních časopisech s IF (0,932 a 2,374), a to jednou jako spoluautor a jednou jako první autor a splnila tak předpoklady k udělení titulu „Ph.D.“ za jménem.

12.8.2017



Doc. MUDr. Pavel Kraml. Ph.D.  
2. interní klinika 3. LFUK Praha