

Oponentský posudek na disertační práci

MUDr. Václava Hány

Steroidní metabolom ve fyziologii a patofyziologii člověka

Předložená disertační práce MUDr. Václava Hány z 1. lékařské fakulty Univerzity Karlovy v Praze se týká komplexního posouzení spektra steroidů u zdravých jedinců a změn u pacientů se subklinickým a plně vyjádřeným hyperkortizolismem – Cushingovým syndromem CS za pomoci nově aplikované instrumentální metody plynové chromatografie s tandemovou hmotnostní spektrometrií. V práci je dále zhodnocení predikce časného pooperačního bazálního kortizolu u pacientů po operacích hypofýzy ve vztahu k pooperační funkci kortikotropní osy.

I. Aktuálnost zvoleného tématu z hlediska celosvětového poznání

Práce obsahuje novou vysoce citlivou a selektivní metodiku simultánního stanovení steroidů metodikou plynové chromatografie s detekcí trojitým kvadrupólem (GC-MS/MS) a její aplikace v patofyziologii a diagnostice nadledvinových onemocnění, což jsou témata dnes vysoce aktuální a dosud publikována nebyla. Navíc, aplikace nových analytických metod s využitím počítačové analýzy dat v této výzkumné praxi se z hlediska vědeckého poznání a celospolečenského významu ukazuje jako velmi nadějná téma. O vysoké aktuálnosti a užitečnosti navržené metodologie proto není sporu.

II. Zvolené metody zpracování a vlastní přínos doktoranda

K práci nemám vážnějších připomínek, mé komentáře jsou spíše náměty k diskuzi, které by mohl u obhajoby dizertant blíže vysvětlit či komentovat.

5. kapitola: Úvod s literárním přehledem, str. 9 – 15: Literární část je zpracována velice pečlivě a přehledně a určitě by stálo za to ji vydat jako přehledový referát do impaktovaného časopisu, což by odborná endokrinologická veřejnost určitě ocenila. Oslnil mne seznam odkazovaných pramenů na stranách 75 – 84, svědčící o solidní informovanosti autora o studované problematice.

6. kapitola: Cíle disertační práce, str. 46 - 48: Autor si vytýčil ve dvou fázích výzkumu své dizertace následující základní cíle.

V první fázi jsou studovány změny spektra steroidů v séru pacientů s incidentalomou nadledvin s cílem:

a) Vyvinout novou metodu stanovení steroidního metabolomu pomocí GC-MS/MS ke stanovení několika desítek steroidů v séru.

b) Komplexně klasifikovat pacienty s incidentalomou nadledvin se subklinickým hyperkortizolismem.

c) Popsat steroidní metabolom u pacientů s různými typy hyperkortizolismu a objasnit etiopatogenezi změn.

d) Vyšetřit, zda může stanovení steroidního metabolomu pomoci v diferenciální diagnostice CS.

V druhé fázi je posouzení prediktivní hodnoty ranního kortizolu po operaci hypofýzy s cílem:

a) Na základě bazálních časně pooperačních koncentrací sérového kortizolu predikovat stanovení ve stimulačních testech.

b) Určit rozmezí hodnot bazálního kortizolu a riziko hypokortizolismu.

c) Vyšetřit, zda lze zkrátit pooperační substituční léčbu glukokortikoidy u části pacientů.

7. kapitola: Metody a materiál, str. 49 – 53: Práce byla vypracována na publikačně renomovaném pracovišti s výtečným přístrojovým vybavením a finanční náklady celého výzkumu byly asi vysoké. Odevzdané výsledky jsou však úměrně vynaloženým nákladům na odevzdanou výzkumnou práci. Dosažené výsledky byly a doufám dále budou uveřejněny ve významném impaktovaném časopise.

8. kapitola: Vlastní výsledky výzkumné práce, str. 53 – 63: V nejdůležitější části dizertace ve výsledcích je řada zajímavých návrhů k počítačové analýze experimentálních dat, které vysoko hodnotím a jak jsem pochopil z literární části, nebyly zatím ostatními autory v oboru příliš využívány. Zaujaly mne zvláště následující podněty, které zde proto komentuji:

Námět k diskusi č. 1: *Při řešení problémů s asymetrií rozdělení výběru a heteroskedasticitou v datech lze použít jednu ze šesti metod transformace dat. Posuďte specifčnost těchto šesti metod a vysvětlete důvody, pro které jste zvolil dotyčnou transformaci dat ve své práci za nejvěrohodnější.*

8.1 Změny steroidního metabolomu u pacientů s incidentalomy nadledvin: naměřená data jsou vyhodnocena metodou OPLS. K prokázání věrohodnosti celého vyhodnocení lékařských dat je třeba vysvětlit, proč nebyla použita třeba diskriminační analýza nebo logistická regrese s využitím regresního tripletu ale byla dána přednost právě metodě OPLS. Tuším a je asi zřejmé, že v datech byla detekována silná multikolinearita, a proto bylo zvoleno vysoce pokročilé a náročné software SIMCA a v něm modifikace regresní metody zvané OPLS. V dizertaci a ani v příloženém separátu však o této elegantní volbě není zmínka a očekávám proto vysvětlení v obhajobě.

Námět k diskusi č. 2: *Vysvětlete metodu regresního tripletu, kterou je možno využít u všech regresních metod. Jaké jsou důvody metody OPLS, kterou jste použili k vysoce věrohodnému vyhodnocení vašich dat?*

8.2 Změny steroidního metabolomu u pacientů s CS: stanovení se jeví provedené spolehlivě.

Námět k diskusi č. 3: *Jaký je český ekvivalent anglického pojmu „cut-off value“ u ROC analýzy a vysvětlete jeho využití ve vašem výzkumu.*

8.3 Prediktivní hodnota bazálního kortizolu při hodnocení kortikotropní osy u pacientů po operaci hypofyzárních tumorů: stejně jako předešle bylo toto stanovení úspěšně a přesvědčivě aplikováno.

9. kapitola: Diskuze, str. 64 – 69: V diskuzi byla problematika vyhodnocených dat dostatečně vysvětlena a porovnána s výsledky rešerše a dosažené výsledky prokázány.

10. kapitola: Závěry: Bylo dosaženo osmi významných závěrů dizertace. Použité statistické metody, především věrohodná OPLS, a další jsou schopné svou vypovídací schopností rozlišit změny steroidního metabolomu u pacientů s incidentalomy nadledvin.

III. Úroveň zpracování habilitace

Po **obsahové stránce** dizertační práce prozrazuje, že jmenovaný je pečlivý experimentátor, zapálený pro výzkumnou práci včetně náročnějšího počítačového vyhodnocení dat. Dizertace je psána stručně a přehledně a bude jenom k doporučení čerpat z ní jako z učebnice před použitím vícerozměrné statistické analýzy v endokrinologickém výzkumu. I když jde o aplikační práci ve statistické analýze endokrinologických dat, je z matematického hlediska a statistické terminologie včetně značení správná a terminologie nezborcená. Při své stručnosti popisu metod vícerozměrné statistické analýzy dat však předpokládá čtenáře dostatečně informovaného o řadě pokročilých počítačových algoritmů.

Po **formální stránce** je práce psána na dizertaci až příliš stručně, sice publikačním jazykem, což zachraňují pro čtenáře výhodně přiložené separáty, jinak by se čtenář v textu mnohde obtížně orientoval. Kvalitní jsou obrázky, které úspěšně prošly technickou kontrolou v časopisech, s aktuálně výstižným popisem obsahu. V práci je bohužel spousta anglicismů a kompjutnické hantýrky (např. *analýza v multiple monitoring módu, Elektron impact ionizace, k určení cut-off hodnot, rozdíly ve statistické signifikanci*, byla použita *receiver operating characteristics analýza*, a další). V práci je ovšem také

nadbytek slov lékařské hantýrky, které by pro větší srozumitelnost mohly být raději nahrazeny spisovnými českými ekvivalenty.

Námět k diskusi č. 4: V komerčním RIA kitu se používá empirický pojem Intra-(či Inter-)essej variační koeficient, který znám, že pochází z metody ANOVA. Měl by být zde vysvětlen a čtenáři nadefinován, k čemu zde slouží a s jakou kritickou hodnotou, což proto očekávám u obhajoby.

IV. Význam pro praxi a další rozvoj vědy

Předložená dizertační práce je užitečná pro společenskou praxi a má proto nesporný význam. Řeší ryze praktické biochemické a endokrinologické téma, správně užívá počítačových metod vícerozměrné statistické analýzy dat. Data jsou zpracována velice pečlivě s využitím moderního diagnostického software. Práce je na dobré úrovni, zpracování dat je pojato náročně a dosažené výsledky výstavby vícerozměrného modelu jsou proto přesvědčivé.

V. Závěr oponentského posudku

Konstatuji, že oponovaná dizertační práce plně vyhovuje požadavkům §47, vyhlášky č. 111/1998 Sbírky, dokumentuje dostatečnou vědeckou kvalifikaci dizertanta a prokazuje dostatečnou tvůrčí schopnost v dané oblasti výzkumu a splňuje požadavky standardně kladené na dizertační práce v tomto oboru. Navíc má značný význam pro rozvoj vědy a obecně lékařské praxe. Doporučuji proto, aby na tomto základě byla práce MUDr. Václava Hány postoupena k obhajobě a po jejím úspěšném obhájení udělen jmenovanému akademický titul

doktor (PhD).

V Pardubicích 22. července 2019

Prof. RNDr. Milan Meloun, DrSc.
Katedra analytické chemie
Univerzita Pardubice,
532 10 Pardubice