

## Oponentský posudek dizertační PhD práce MUDr. Sylvy Skálové

Název práce:

**The diagnostic role of urinary N-acetyl-beta –D-glucosaminidase as a marker of renal tubular impairment in children**

Autor dizertace: **MUDr. Sylva Skálová**, Dětská klinika LF hradec Králové

Oponent: **Prof. MUDr. Jan Janda, CSc.**, Pediatriká klinika UK 2.LF v Praze

Svázaný exemplář dizertace zahrnuje 97 stran textu, do kterého jsou logicky vloženy tabulky a schémata, na str. 2 je pěkně přehledný obsah.

Na celkem 30 stránkách autorka uvádí patofyziologický přehled tubulárních funkcí a jejich možných poruch, jde vlastně o práci typu souborného referátu problematiky-review. V závěru tohoto přehledu jsou citovány 33 práce a uvedeno 14 odkazů na webové stránky.

Od strany 51- 88 jsou v textu zařazeny již dříve publikované práce v domácích, ale hlavně zahraničních periodících. Jedna publikace představuje abstrakt z kongresu ESPN v roce 2006 a text je rozšířen na článek, zatím nepublikovaný. Ostatní práce jsou uvedeny ve „fulltextu“, tak jak byly otištěny. Všechny se zabývají problematikou uvedenou v názvu dizertace.

Po formální stránce je dizertace sepsána v angličtině, vzorně svázána. Pokud mohu posoudit jako „not native in English reader“, angličtina je bez chyb, jistě přehlédnuta někým, kdo „native“ skutečně je.

Oponent má ulehčenou úlohu, protože zařazené publikace prošly již před přijetím k tisku klasickou cestou „peer review“. I když nejde o špičková periodika v oblasti nefrologie, jsou to slušné časopisy, kde práce musely po obsahové i formální stránce vyhovět běžným standardům. Nephrology (Carlton) má v 2006 IF 1.095, Pediatric Nephrology 2006 IF 2.007. I abstrakt otisknutý v renomovaném žurnálu Pediatric Nephrology prošel výběrovým řízením, zdaleka ne všechna zaslaná abstrakta na kongresy ESPN jsou akceptována k prezentaci a tisku v renomovaném žurnálu.

**Několik připomínek a poznámek oponenta k dizertačnímu spisu:**

V úvodním přehledu skoro až moc podrobná fyziologie se základními učebnicovými daty, stačilo by soustředit se více na tubulopatie, které mají vztah k „main

topic“ práce. U vrozených tubulopatií by přehled zasluhoval podrobněji uvést dnešní roli molekulární genetiky v diferenciální diagnostice této skupiny chorob, kde samotné klinické vyšetření nemusí vždy rozhodnout přesně, kam pacienta zařadit (např. Bartter versus Gitelman syndrome, kde se často klinické příznaky překrývají). Obecně se dnes zdůrazňuje podrobné genetické vyšetření s molekulární diagnostikou, kdy se dá tubulopatii prenatálně diagnostikovat a v případech špatné prognózy nemoci při přání rodiny graviditu ukončit. U akutní tubulointersticiální nefritidy by neměl chybět údaj u TINU (TIN plus uveitis, kde se vyskytuje i dědičná zátěž). U FE kalcia a fosfátu nejsou uvedena normální rozmezí. Z hlediska proteinů v moči mohla být alespoň zmínka o pokusech vyšetřovat mikroproteiny v moči resp. selektivitu proteinurie pomocí PAAG-elektroforézy (u nás to opakovaně publikoval Rudolf Slováček z Plzně), ovšem fakt je, že se vyšetření na renomovaných pracovištích prakticky neprovádí.

Enzymy v moči- main topic dizertace: z historického hlediska možno uvést i enzym GGTP, jehož koncentrace v tubulech je zřejmě vyšší než ve žlučových cestách. Oponent kdysi sám s biochemiky testovali možnost testovat koncentraci GTTP v moči a využít to při diagnostice akutní pyelonefritidy. V poslední době se zase objevily zprávy o využití GTTP (Marchewka Z et al: Selected biochemical parameters of urine in the evaluation of paracetamol nephrotoxicity. *Przegl Lek.* 2006;63:1299-303), nebo Vlatković V, et al: Damage of tubule cells in diabetic nephropathy type 2: urinary N-acetyl-beta-D-glucosaminidasis and gamma-glutamyl-transferasis. *Vojnosanit Pregl.* 2007 Feb;64:123-7, event. Ayca B et al.: The effect of exercise on urinary gamma-glutamyl transferase and protein levels of volleyball players. : *J Sports Med Phys Fitness.* 2006 Dec;46:623-7. Mají biochemici v Hradci nějakou zkušenost se stanovením GGTP v moči? Je v tom nějaký problém stability v kyselé moči? Nabízí se např. otázka, jak vypadá U-GTP u významného abusu alkoholu u mladistvých s hladinami více než 2-3 promile etanolu. Mimochodem, když autorka s Dr. Kutílkem vyšetřuje i kostní metabolismus, tak koncentrace GGTP v moči je referována jako možný marker kostní resorpce. (Asaba Y: Urinary gamma-glutamyltransferase (GGT) as a potential marker of bone resorption. *Bone.* 2006 Dec;39(6):1276-82. Epub 2006 Aug 30). Jaký je názor dizertantky na dnešní použití beta-2-mikroglobulinu (mimochodem před léty téma CSc. dizertace dnešní docentky Bláhové s pokusem najít marker renální léze především u zánětů). Zajímavé je, že se beta-2-M a beta-trace-protein dnes testují i jako marker GFR, shodou okolností jsem dostal tuto informaci od svého příbuzného doc. Boekenkampa (Boekenkamp: beta-Trace protein - A

marker of kidney function in children "Original research communication-clinical investigation. Clin Biochem. 2007 May 24.

Narazila autorka někde na ten beta-trace protein a jeho vyšetřování v moči? (viz také Hoffman A et al: Molecular characterization of  $\beta$ -trace protein in human serum and urine: a potential diagnostic marker for renal disease, Glycobiology vol 7 no 4 pp. 499-506, 1997

Poznámka k citacím literatury uvedeného review- nemyslím, že by se do odborného článku musely dávat webové stránky Wikipedie, i když jsou někdy překvapivě dobré a instruktivní, není to většinou kontrolovaný text. To se týká třeba odkazu na beta-2-mikroglobulin.

Oponent chápe, že rozsah informací o NAG v úvodním přehledu byl poměrně malý, když následuje review otištěné v Acta Medica, periodiku vydávaného v Hradci Králové, které je ale dostupné na medline. Literární citace recentních prací jsou bohatě zastoupeny 92 položkami.

Podrobný přehled diagnostického významu NAG je uveden v přehledném článku v Acta medica (Hradec Králové z roku 2005). Jak uvedeno, citací v literatuře je velká spousta v různém klinickém materiálu, nejen nefropatií. Pěkný přehled kde a jak bylo NAG vyšetřováno, uvedeno celkem 92 literárních odkazů.

Autorka sama uvádí, že pro evaluaci močové koncentrace NAG si každé pracoviště musí provést své šetření normálních hodnot, což se v Hradci podařilo a je nepochybně zásluhou Skálové a teamu biochemiků, údajů o normách v ostatních pracích moc nebylo, potvrdila se závislost na věku s vysokými hodnotami NAG u kojenců uváděná v literatuře. Byl by statistický rozdíl mezi věkem 1-3 a 10-18 (NAG 16.63 resp. 8.82)? Myslím, že práci Renal tubular impairment in children with idiopathic hypercalciuria mohli autoři zkusit poslat do nějakého zahraničního periodika. V grafické dokumentaci by to chtělo znázornit i vlastní normální hodnoty U-Ca/24 resp. U-NAG/kreatinin a ne jen odkazovat na statistiku. Bezvadné je vyjádření hodnot jako Z-úkové, ani by to jinak nešlo při věkovém rozptylu probandů. Nebyl pokus korelovat odpady kalcia/24 hodin s index Ca/kr ve *spot urine*?

Pěkná je práce navazující na předchozí studii, kde byl testován vliv idiopatické hyperkalciurie (IH) na „body composition“ - kostní denzity – BMD testováno metodou DEXA. BMD nalezena při IH významně nižší- tedy možný rizikový faktor pro nižší obsah kalcia ve skeletu. Viz také shora poukaz na GGTP v moči při resorpci skeletu.

Zajímavé je sdělení o NAG/kr u enuretiků, otištěno jako Letter to the Editor v Indian Pediatrics 2006 (IF žurnálu bude asi od 2008). Oponent nerozumí zcela závěrům – UNAG/kr bylo v mezích normy u 10 dětí a u 4 zvýšeno a když se to dalo dohromady, tak to bylo na  $p=0-003$ ? V tabulce nejsou uvedeny počty probandů.

Rozšířený abstrakt posteru z ESPN kongresu 2006 řeší hodnoty NAG/kreatinin u dětí s vezikoureterální refluxem, poslední publikace se věnuje NAG/kr u dětských hydronefrózy. Autorka na vlastním materiálu potvrzuje cenu NAG/kr vyšetření u obou uropatie, když zvýšené hodnoty mohou doplnit s dalšími parametry renální lézi- refluxovou nefropatii, i když bohužel hodnoty NAG/Kr nekorelují statisticky s rozsahem uropatie.

**Závěrem** budiž ještě řečeno, že oponent zná dřívější i současné odborné aktivity Dr. Skálové především z fóra pracovní skupiny dětské nefrologie při ČPS, kde ona vystupuje vždy s aktivními příspěvky, účastní se i zasedání mezinárodních akcí. Sekce dětské nefrologie v Hradci Králové splňuje dnes kritéria standardního univerzitního klinického pracoviště.

Předložená dizertace svědčí o schopnosti autorky postupovat vědecky při shromažďování klinických souborů, interpretaci laboratorních metod a evaluaci výsledků a posouzení jejich relevance statistickými metodami. Z tohoto hlediska bych velmi pozitivně hodnotil standardní použití Z-skóre při statistickém hodnocení, mělo by to být v pediatrii pravidlem, ale stále je řada prací, kde to autoři nerespektují.

**Přes drobné připomínky shora uvedené předložená práce splňuje všechny požadavky kladené na PhD dizertaci a oponent samozřejmě doporučuje veřejnou obhajobu, které se, pokud bude možno, rád zúčastní. Při ní je možno také odpovědět resp. diskutovat některé otázky a poznámky uvedené v tomto posudku.**

**Prof. MUDr. Jan Janda, CSc.**

Praha- Světlík červenec 2007