

Oponentura doktorské disertační práce
MUDr. PETRY KLEIBLOVÉ
**„Úloha tukové tkáně v regulaci inzulínové senzitivity během
těhotenství“**

Cílem výše uvedené doktorandské disertační práce MUDr. Petry Kleiblové byla především charakterizace změn genové exprese v tukové tkáni, ke kterým dochází u pacientek s rozvojem gestačního diabetu mellitu.

Práce je koncipována jako klasická disertační práce (92 stran textu), vyniká grafickým zpracováním, koncísním stylem a přehledným uspořádáním.

Úvod (33 stránek) je vyčerpávajícím přehledem interdisciplinární problematiky vzniku a rozvoje inzulínové resistance. Detailně charakterizuje především vlastnosti a úlohu tzv. adipokinů – hormonů tukové tkáně a jejich receptorů, jejichž význam v práci autorka akcentovala. Velmi oceňuji přehledná schémata sloužící k rychlé orientaci ve studované problematice.

Moderní metodické postupy které ve své práci použila autorka, jsou velmi podrobně a přehledně popsány na 17 stranách. Zahrnují izolace genetického materiálu, expresní arrays, qPCR, biochemické stanovení analytů včetně přístupů validace a kvantifikace použitých metod a statistických analýz.

Výsledky práce jsou shrnuty na 26 stranách (22 přehledných a výstižných doprovodných obrázků a 11 tabulek). Autorka disertační práce se pokusila velmi komplexní výsledky práce komentovat a uvést do souladu se současnými poznatky v diskusi čítající 12 stran.

Diskuse dosažených výsledků je uvážlivá a autorka se nepouští do neopodstatněných úvah a závěrů. Vzhledem k zaměření práce považuji za velmi přínosné zařazení detailního seznamu zkratk před seznamem použité recentní literatury (celkem 206 prací našich i zahraničních autorů).

V první části disertační práce autorka řešila problematiku změn sérových koncentrací hormonu adiponektinu u žen v průběhu fyziologického menstruačního cyklu. Z výsledků, které publikovala vyplývá, že přes podstatné individuální změny koncentrací adiponektinu (fluktuace ~80-120% průměrných hodnot) tyto nekorelují s biochemickými markery jednotlivých fází menstruačního cyklu.

Ve druhé části disertační práce autorka zkoumala změny v expresi genů, především těch, které se účastní signalizace insulinového receptoru v placentě, podkožní a viscerální tukové tkáni. Studie byla zahájena úvodní sérií analýz pomocí microarrays na omezeném souboru probandek (osm pacientek) tří skupin – fyziologicky těhotných, těhotných s diabetem (GDM) léčených insulinem a těhotných s diabetem kompenzovaným diétou. Po vyhodnocení microarrays byly vybrány kandidátní geny (celkem 13), jejichž genová exprese se ve zmiňovaných skupinách odlišovala a tyto geny byly charakterizovány na širším souboru 13 kontrol a 14 pacientek s GDM. Analýza byla prováděna opět ve vzorcích placenty, podkožní a viscerální tukové tkáně metodou kvantifikace mRNA pomocí PCR v reálném čase (qPCR). Kromě genů se změněnou expresí nalezenou v rámci hodnocení microarrays byly studovány další geny se vztahem k metabolismu tukové tkáně a lipidů (dalších 14 genů). Výsledky qPCR byly pečlivě kvantifikovány relativní kvantifikací se třemi „house-keeping“ geny. Výsledky změn v genové expresi byly korelovány s vyšetřeními sérových koncentrací řady parametrů (např. adiponectin, leptin, resistin, insulin, glykovaný Hb atd.).

Celkové výsledky změn genové exprese jsou přehledně uvedeny v tabulce 27 na straně 97. Z nich vyplývá že byly nalezeny signifikantní rozdíly v genové expresi mezi zdravými těhotnými ženami a pacientkami s GDM. Rozdílná exprese v jednotlivých tkáních naznačuje jejich různou úlohu v etiopathogenesi GDM. Tyto nálezy je možné považovat do určité míry za prioritní. Domnívám se, že je škoda, že (zatím !?) nebyly publikovány. Na práci si velmi cením šířky záběru expresní studie, která si vyžádala velké množství vyšetření qPCR (dle mého odhadu více než 5000!) a její velmi podrobné a dobře dokumentované statistické vyhodnocení.

Rád bych se autorky zeptal:

- uvažuje-li o rozšíření souboru a pokračování ve sledované problematice?
- přestože cílené arrays znamenají značnou výhodu ve studiu pouze určitých a s onemocněním obvykle souvisejících genů, neobává se autorka, že některé z důležitých regulátorů mohly být opomenuty?

K předložené práci nemám zásadních připomínek. Asi budu vypadat jako konservativní laudator temporis acti, ale považoval bych za vhodné, přestože se nejedná o disertační práci v oboru biochemie, používání doporučeného a nikoliv progresivního názvosloví speciálně u enzymů (-asa vs. -áza).

Závěrem konstatuji, že **MUDr Petra Kleiblová** předloženou disertační prací **dokázala, že zvládla metodiku vědecké práce, orientaci v problému, výběr vhodných postupů a kritické zhodnocení vlastních výsledků**. Kromě toho předložená práce přináší i nové poznatky otevírající další experimentální možnosti ve studované problematice. **Práce splňuje všechny požadavky kladené na doktorskou disertační práci a doporučuji, aby na jejím podkladě byl MUDr. Petře Kleiblové udělen titul PhD. za jménem.**

V Praze dne

A rectangular area of the document is redacted with a solid pink color, obscuring the signature of the author.

Doc. MUDr. Petr Čechák, CSc.