



UNIVERZITA KARLOVA
Lékařská fakulta
v Hradci Králové

**Oponentský posudek na disertační práci autora pana MUDr. Jana Kotašky s názvem:
Využití biochemických markerů (Lipoproteinová fosfolipáza A2 a kyselina hyaluronová)
k laboratorní diagnostice metabolických a degenerativních onemocnění pohybového
aparátu**

Předložená práce s výše uvedeným názvem má celkem 61 stránku včetně grafů, tabulek a přehledu literatury.

Úvodní část se týká metabolických onemocnění pohybového aparátu, mluví se v ní obecně o osteoporóze, její etiopatogenezi, diagnostice, RTG vyšetření a terapii.

Další kapitola je věnována degenerativním onemocněním pohybového aparátu. Samostatnou kapitolu končí popis laboratorních vyšetření užívaných v diagnostice chorob pohybového ústrojí. Autor v ní popisuje jednotlivá užívaná laboratorní vyšetření.

V části 4.1.4 je uveden stručný přehled „nově vyšetřovaných biomarkerů v diagnostice chorob pohybového ústrojí“ (tab. 6) str. 35. (Degradční enzymy, matrixové molekuly, regulační proteiny a jiné.) Tyto biomarkery se dle autora zdají být slibnými v diagnostice chorob pohybového ústrojí.

Cíle práce si autor stanovil následovně:

1. Stanovit koncentraci lipoproteinové fosfolipázy A2 u pacientů s defektem kostní denzity a posoudit možnost využití LpPLA2 jako doplňkového biochemického markeru osteoporózy.
2. Stanovit koncentraci kyseliny hyaluronové v synoviální tekutině pacientů s gonartrózou z hlediska ukazatele závažnosti postižení.

Hypotézy

1. Lipoproteinová fosfolipáza A2 je biomarkerem kardiovaskulárních onemocnění, může být také markerem osteoporózy?
2. Jsou popsány změny koncentrace kyseliny hyaluronové v séru u pacientů s degenerativními onemocněními. Mění se koncentrace kyseliny hyaluronové v synoviální tekutině v závislosti na závažnosti gonartrózy?





UNIVERZITA KARLOVA
Lékařská fakulta
v Hradci Králové

Pacienti a metody

1. Stanovení koncentrace fosfolipázy A2

Do studie bylo zařazeno 85 pacientů (4 muži, průměrný věk 56 let, 81 žen, průměrný věk 70 let) s klinicky diagnostikovaným deficitem kostní hmoty hodnoceným dle kritérií WHO, kontrolní skupinu tvořilo 46 zdravých jedinců (14 mužů, 32 žen, průměrný věk 47 let). K vyhodnocení kostní denzity byla použita duální rtg absorpciometrie (DXA). Získané hodnoty jsou uvedeny v tabulce 7.

2. Stanovení kyseliny hyaluronové u pacientů s gonartrózou.

Do skupiny bylo zařazeno 67 pacientů (35 mužů, 32 žen, průměrný věk 68 let). Pacienti byli rozděleni dle stupně gonartrózy dle rtg známek hodnocených dle Kellgren-Lawrence do 4 skupin. Koncentrace kyseliny hyaluronové v synoviální tekutině odebrané pacientům během operace byly stanoveny pomocí komerčně dostupného kitu ELISA. Nízké koncentrace kyseliny hyaluronové jsou spojeny s nízkou viskoelasticitou a viskozitou a tedy se závažností onemocnění. Autoři v jejich studii prokázali významnou pozitivní korelaci koncentrací kyseliny hyaluronové osmolality v synoviální tekutině. Tato korelace ukazuje možnost využití kyseliny hyaluronové jako ukazatele viskoelastivity a viskozity k posouzení klinického stavu pacientů s artrózou.

Podrobnosti v tabulce 8.

Sérové hladiny Lp-PLA2 byly měřeny v kontrolní skupině zdravých jedinců a u pacientů. Sérové hladiny Lp-PLA2 byly u pacientů významně zvýšeny ve srovnání se zdravými jedinci. Pacienti byli rozděleni do tří skupin (osteoporóza, osteopenie a normální kostní denzita) podle T-skóre odhadovaného z denzitometrie. T-skóre se vyjadřuje jako standardní odchylka kostní hustoty od referenční populace.

Mediány koncentrací Lp-PLA2 u pacientů s osteoporózou, osteopenií a normální kostní denzitou podle DXA byly významně zvýšené oproti kontrolní skupině s největším rozdílem u pacientů s osteoporózou a osteopenií.





UNIVERZITA KARLOVA
Lékařská fakulta
v Hradci Králové

U všech pacientů byl také měřen sérový osteokalcin jako marker osteosyntézy a remodelace kostí. Referenční intervaly pro sérový osteokalcin byly následující: muži od 50 do 70 let: 14-46 mg/l, ženy mladší než 55: 11-43 mg/l, ženy starší než 56: 15-46 mg/l.

Sérové hladiny Lp-PLA2 u pacientů se sníženými koncentracemi osteokalcinu v séru (koncentrace menší než referenční interval) byly porovnány s kontrolní skupinou zdravých jedinců. Dvacet čtyři pacientů z celé skupiny (n=85) mělo sérovou hladinu osteokalcinu nižší, než je dolní hranice referenčního intervalu. Koncentrace Lp-PLA2 u všech pacientů s nízkou koncentrací osteokalcinu v séru byly významně zvýšené ve srovnání se zdravými jedinci.

V podskupině pacientů s osteoporózou a sníženými sérovými hladinami osteokalcinu byly hladina Lp-PLA2 významně zvýšena, na rozdíl od kontrolní skupiny. Koncentrace Lp-PLA2 v ostatních skupinách (pacienti s osteopenií a normální kostní denzitou) se sníženými sérovými hladinami osteokalcinu nedosáhly statistické významnosti.

Koncentrace Lp-PLA2 nepřímo korelovala se sníženými hladinami sérového osteokalcinu.

Autoři sledovali souvislost elevace Lp-PLA2 s terapeutickými postupy (antiresorpční terapie a antiresorpční terapie kombinovaná s terapií snižující lipidy) a obě souvislosti byly signifikantní.

Rozdíly koncentrací KH mezi jednotlivými skupinami nebyly statisticky významné. Koncentrace KH v synoviální tekutině se nelišily od publikovaných referenčních hodnot 1500-3200 mg/l. Koncentrace KH nezávisí na věku, pohlaví, stupni artrózy, ani na závažnosti onemocnění charakterizovaném nutností provedení totální endoprotézy.

Diskuse

Získané výsledky podporují důkazy o významné roli fosfolipázy A2 v metabolických procesech kostního metabolismu. Fosfolipázy se účastní metabolismu prostaglandinu a působí tedy jako stimulátor kostní resorbce. Autor také diskutuje o vzájemném vztahu mezi kostním metabolismem a kardiovaskulárním postižením. Věnuje pozornost i vlivu léčby bisfosfonáty na kardiovaskulární aparát. Snížení hladiny sérového osteokalcinu koreluje s dlouhodobou léčbou bisfosfonáty, což ve své práci potvrdil i autor.





UNIVERZITA KARLOVA
Lékařská fakulta
v Hradci Králové

V druhé části práce byla stanovena koncentrace kyseliny hyaluronové v synoviální tekutině u pacientů s gonartrózou a možnost využití tohoto parametru k posouzení závažnosti postižení. Autoři neprokázali významnou závislost na věku ani na radiologickém stupni postižení. Pacienti, kteří podstoupili ASK mají významně vyšší koncentraci kyseliny hyaluronové oproti pacientům podstupujícím TEP. Jedním z vysvětlení může být nižší věk pacientů podstupujících ASK. Jedná se o akutní stav oproti pacientům s chronickými obtížemi podstupujícím implantaci TEP.

Závěry:

1. Koncentrace lipoproteinové fosfolipázy A2 jsou zvýšené u pacientů s poškozením kostní denzity.

Koncentrace LpPLA2 korelují s mírou závažnosti postižení kostní denzity vyjádřenou pomocí T skóre. (Nejvyšší hodnoty jsou u pacientů s osteoporózou vyjádřenou hodnotou T-skóre < 2,5).

Fosfolipáza asociovaná s lipoproteiny (LpPLA2) má významnou úlohu v metabolických procesech kostního metabolismu a může být doplňkovým biochemickým markerem u pacientů s postižením kostní denzity diagnostikované pomocí DXA. (Koncentrace LpPLA2 korelují s ukazateli kostní resorpce, konkrétně byla prokázána nepřímá korelace se sériovými hladinami osteokalcinu).

2. Koncentrace kyseliny hyaluronové u pacientů s gonartrózou podstupující artroskopický výkon jsou významně zvýšené oproti skupině pacientů podstupující operaci totální endoprotézy kolena.

Koncentrace kyseliny hyaluronové v synoviální tekutině nekorelují se závažností onemocnění posuzovanou dle radiologických kritérií gonartrózy (RTG klasifikace dle Kellgrena a Lawrence).

Koncentrace hyaluronové kyseliny v synoviální tekutině korelují se zvýšeným osmotickým tlakem a mohou být tedy doplňkovým ukazatelem závažnosti artrózy.





UNIVERZITA KARLOVA
Lékařská fakulta
v Hradci Králové

Práce obsahuje typografické chyby (např. tabulka 2, str. 39 a jiné), obrázek 4 je málo instruktivní. Vlastní práce zahrnuje 10 tabulek a 8 grafů vyjadřujících vzájemné souvislosti. Autor uvádí v souhrnu literatury 46 publikací z českého a světového písemnictví.

Práce je logicky členěna do jednotlivých kapitol. Počty pacientů v jednotlivých studiích jsou dostatečné a výběr statistických metod hodnocení odpovídá charakteru práce.

Autor uvádí k dané problematice 2 práce s IF, z nichž u jedné je prvním autorem a u druhé spoluautorem. V recenzovaných časopisech vyšla 1 jeho publikace. Dále je uvedena 1 publikace s IF mimo dané téma a 11 publikací v recenzovaných časopisech většinou jako spoluautor. Práce je stručná, ale splňuje požadavky dané pro disertační práci.

Autor v práci odpověděl na jím samým stanovené cíle a hypotézy.

Obě hlavní témata byla zvolena dobře, jsou aktuální a autor svou prací na ně dostatečně odpověděl.

Sám autor uvádí, že tato práce je prvotní a je nutno na ni navázat. Z toho plynou mnou položené otázky:

1. Jakou má autor představu o pokračování tohoto výzkumu a bude se autor této práce účastnit?
2. Jaké bude využití těchto poznatků v klinické praxi a jak zlepší diagnostiku a terapii v klinické praxi?

Předkládaná disertační práce MUDr. Jana Kotašky splňuje podmínky uvedené v § 47 odst. 4 Zákona o vysokých školách č. 111/1998 Sb., doporučuji ji proto přijmout a uchazeči po splnění zákonných náležitostí udělit titul Ph.D.

V Hradci Králové dne 11.11.2021

doc. MUDr. Karel Karpaš, CSc.

