

OPONENTSKÝ POSUDEK

doktorandské dizertační práce Ing. Daniely Pintérové

MOLECULAR ASPECTS OF GENETIC PREDISPOSITION TO TYPE 2 DIABETES MELLITUS AND ITS MONOGENIC FORMS

Cílem dizertační práce bylo přispět na základě studia tématicky zvolených kandidátních genů k poznání patogeneze a predikci rizika rozvoje diabetu 2. typu (DM2), jeho komplikací a jeho monogenních forem.

Specifickými cíli bylo 1) studovat roli polymorfismu Pro12Ala genu *PPARG2* v rozvoji inzulinové rezistence a DM2 a jeho případnou asociaci s hladinami lipidů, 2) zjistit význam polymorfismu genu *NFKB1* (CA repetice), který kóduje podjednotku p105 NFκB, a jednonukleotidového polymorfismu A/G v 3'UTR genu *NFKBIA*, kódujícího inhibiční protein IκB, v patogenezi DM2, inzulinové rezistence, diabetických mikrovaskulárních a aterosklerotických komplikací, 3) zjistit genetické příčiny asymptomatické hyperglykémie v kohortě dětí a mladistvých a 4) zjistit prevalenci mutací genů *HNF4A*, *GCK* a *TCF1* v souboru českých pacientů s dg. MODY.

Forma a rozsah práce: Dizertace je vypracována v anglickém jazyce. Odborné části předchází podrobný úvod, který vystihuje aktuální stav studované problematiky, metodická a výsledková část je přehledně členěna do podkapitol. Jádrem dizertační práce jsou čtyři komentované publikace. Jsou to originální články publikované v impaktovaných časopisech (*Folia Biologica*, IF=0,507; *Human Immunology*, IF=2,605; *Eur J Pediatr*, IF=1,137; *Clin Genet*, IF=3,181). V diskusi autorka předkládá hlavní závěry v konfrontaci s výsledky publikací zaměřených na příbuznou problematiku a práci uzavírá stručné a výstižně formulované shrnutí. Vlastní text má celkem 96 stran, zahrnuje 239 citací, 10 schémat a obrázků a 12 tabulek.

Pouze několik formálních chybiček, které jsem v textu objevila, svědčí o nesmírné pečlivosti autorky a vysoké formální úrovni celé dizertační práce.

Hodnocení postupu, metodik a výsledků:

Autorka se podílela na dvou asociačních studiích a dále na studiích věnovaných monogenním formám diabetu, kdy bylo třeba kompletovat rozsáhlé soubory pacientů a kontrol. Osvojila si metodiky molekulární DNA analýzy. Své zkušenosti v tomto směru prohloubila i při pobytu na zahraničním pracovišti. Naučila se získané výsledky hodnotit za pomoci adekvátních statistických metod a prezentovat.

- 1) Byla nalezena signifikantně nižší frekvence alely Ala genu *PPARG2* u souboru pacientů s DM2 (n=133) ve srovnání s kontrolami (n=97), nicméně asociace tohoto polymorfismu s BMI, pohlavím či s hladinami lipidů potvrzena nebyla. (Pintérová D., et al.: *Folia Biologica*, 2004, 50(5):153-156, IF=0,507)
- 2) Co se týče vlivu polymorfismů genů kódujících protein NKκB a jeho inhibiční protein IκB, které jsou zahrnuty v imunitní odpovědi, byla pozorována signifikantně vyšší frekvence homozygotů AA promotorového polymorfismu genu *NFKBIA* u diabetiků oproti kontrolám, zejména u diabetiků bez diabetické nefropatie. Dle autorů tento genotyp představuje rizikový faktor pro diabetes samotný, ale nikoli pro renální poškození. (Romžová M. et al., *Human Immunology*, 2006, 67(9):706-713, IF=2,605).
- 3) Za velmi zajímavé a prakticky užitečné považuji zjišťování prevalence různých typů diabetu u dětských a adolescentních pacientů s asymptomatickou hyperglykemií. U 82 neobězných pediatrických pacientů, u kterých byla opakovaně zjištěna glykemie nad

5,5 mmol/l, byly testovány mutace v genech *GCK*, *TCF1*, *KCNJ11*, *HNF4A*, které jsou příčinou MODY či permanentního neonatálního diabetu (PNDM). U 48% pacientů byla zjištěna monogenní forma diabetu. Přesná a včasná diagnostika monogenních forem diabetu má přímý diagnostický, prediktivní a zejména terapeutický výstup. V případě MODY3 či u pacientů s mutacemi *KCNJ11* je možno nahradit léčbu inzulínem nízkými dávkami sulfonylurey, což značně usnadňuje jejich život. (Feigerlová E., et al. *Eur J Pediatr*, 2006, 165(7):446-452, IF=1,137)

- 4) Ve čtvrtém komentovaném článku je popsáno šest nových mutací v genu pro *GCK* u českých pacientů s MODY2 (Pintérová D., et al., *Clin Genet* 2007, 71(1):95-96, IF=3,181).

Připomínky:

- 1) Drobná připomínka k formální stránce – doporučovala bych vkládat obrázky naležato obráceně, tj. s popisem orientovaným k okraji stránky a ne k vazbě. Zkratky genů bývá zvykem psát itálikou.
- 2) Odds ratio je nutno udávat nejen spolu s hodnotou signifikance p, ale i s konfidenčním intervalem.
- 3) Nerozumím souvislosti: „Since the AA genotype of the *NFKBIA* gene presents a risk for type 2 diabetes development but not for diabetic nephropathy alone, we believe that *NFkB* gene polymorphism can influence the pathogenesis of diabetes mellitus and affect its complications.“ (viz abstrakt článku a str. 17 autoreferátu).

Dotazy:

- 1) Je známa interakce polymorfismu Pro12Ala genu *PPARG2* s koncentrací a typem volných mastných kyselin, s fyzickou aktivitou a s thiazolidindiony. Považujete za vhodné vyšetřovat genotyp *PPARG2* u pacientů, u kterých je zvažována terapie thiazolidindiony?
- 2) Jak si vysvětlujete velmi rozdílnou frekvenci alely A7 genu *NFKB1* ve skupinách dospělých pacientů s diabetem 1. typu oproti dětským pacientům se stejnou diagnózou a pacientům s LADA (viz Tab.10, str. 57)?
- 3) Liší se kohorta pacientů s mutacemi *GCK* publikovaná v roce 2007 od kohorty publikované v r. 2003, nebo se překrývá? Jaký je v současné době v České republice počet pacientů/rodin s dg. MODY a PNDM?

Závěr : Dizertační práce řeší aktuální problematiku významnou pro základní výzkum i klinické aplikace. Dizertantka prokázala, že ovládá vědecké metody, že má hluboké znalosti teoretické. Práce splňuje vytčené cíle, přináší nové výsledky, hodnocení je provedeno střízlivě za použití validních metod. Předkladatelka je hlavní autorkou dvou impaktovaných publikací a tří prezentací na symposiích a spoluautorkou dalších 6 publikací a 25 prezentací s příbuznou tematikou. Po formální stránce je dizertace zpracována vynikajícím způsobem. Předkládaná dizertační práce prokazuje předpoklady studentky k samostatné tvůrčí vědecké práci.

Dizertační práci Ing. Daniely Pintérové proto doporučuji k obhajobě a při jejím úspěchu jako podklad pro udělení titulu PhD.