

Oponentský posudek doktorské disertační práce

Autor: Mgr Helena Svobodová

Pracoviště: 3. interní klinika 1. LF UK a VFN

Název práce: Význam exprese vybraných leukocytárních a trombogenních markerů v procesu aterogeneze

Předložená disertační práce Mgr. Svobodové se zabývá velmi aktuální problematikou – výzkumem procesu aterogeneze v klinických podmínkách. Cílem klinické studie bylo vyšetření leukocytární exprese cytoadhezivních a trombogenních molekul u dvou souborů pacientů - s hyperlipidémií a diabetem mellitem - a hodnocení efektu hypolipidemické a antidiabetickou léčby na tyto ukazatele.

Přínos práce je v první řadě metodologický. Spočívá v zavedení metody relativní kvantifikace genové exprese cytoadhezivních a trombogenních molekul na periferních leukocytech metodou PCR po reverzní transkripci. Je zřejmé, že práce byla metodicky velmi náročná, a většinu použitých metod autorka v průběhu své práce zaváděla.

Po stránce klinické je třeba zdůraznit, že se jedná o jednu z prvních studií, hodnotící dané parametry metodou real-time PCR u diabetiků. Je třeba ocenit, jak se autorka v diskusi vyrovnala se skutečností, že genová exprese vyšla v rozporu s očekáváním a v rozporu s výsledky povrchové exprese.

Z formálního hlediska má disertace přiměřený rozsah 95 stran a je členěna do oddílů podle zvyklostí vědeckých publikací. Úvodní kapitola v délce 20 stran přináší přehled problematiky, patofyziologie endoteliální dysfunkce a procesu aterogeneze. Přehled vychází z recentní literatury a je délkou i pojetím úměrný vlastnímu tématu. Možnosti farmakologického ovlivnění aterogeneze, kterými se autorka ve své práci zabývá, sice nejsou v tomto úvodním přehledu zmíněny, ale autorka se k nim vrací v diskusní části k výsledkům své práce.

Nejdelší část je věnována vlastní klinické studii a je uzavřena stručným souhrnem dosažených výsledků. Tyto výsledky, stejně tak jako přehled vlastních publikací autorky, zahrnující práce v impaktovaných i domácích časopisech, zahraniční i česká sjezdová sdělení, dokládají autorčiny široké znalosti v této problematice.

Práce je připravena pečlivě, srozumitelně formulovaná a přehledná. Výsledky jsou prezentovány přehledně, s kvalitní obrazovou dokumentací a poskytují dostatečnou oporu pro vyvozené závěry.

K práci lze mít některé drobné výhrady a to především formálního charakteru.

V kapitole Východiska a cíle není jasně formulována hypotéza, tedy očekávané výsledky. Nutno ale říci, že z výsledků i z diskuse následně tyto hypotézy vyplývají, tj. vyšší hodnoty sledovaných ukazatelů u pacientů proti kontrolám a jejich předpokládané snížení po léčbě.

Další drobné výhrada, resp. dotaz na autorku míří na výběr kontrolních skupin. Z textu není jasně patrný důvod pro vytvoření dvou kontrolních skupin zdravých osob, přičemž vstupní kritéria pro zařazení jsou u obou skupin totožná. Tyto skupiny se navíc mezi sebou v některých parametrech liší (zastoupení podle pohlaví, procento kuřáků).

Část věnovaná použitým statistickým metodám je poměrně stručná. Není např. uvedeno, jakým způsobem byla testována normalita rozložení dat pro volbu parametrických či neparametrické testů. Není rovněž uvedeno, jaký statistický postup byl použit k podpoře tvrzení, že „počet kuřáků a hypertoniků v experimentální a kontrolní skupině se statisticky významně neliší“. Jedná se ale o formální opomenutí, které nijak nezpochybňuje prezentované výsledky.

Závěr: Předložená práce je kvalitní, po formální i obsahové stránce dobře zpracována a přináší nové poznatky. Práce dokládá, že Mgr. Svobodová má dostatečné teoretické znalosti a je schopná samostatné vědecké práce i prezentace jejích výsledků.

Doporučuji proto, aby práce byla přijata v předložené formě a aby na jejím základě byl Mgr. Svobodové udělen titul PhD.

Dotazy:

1. Pacienti – diabetici na rosiglitazonu byli vyšetřeni před léčbou a po ukončení léčby. Otázka: Jaký byl interval mezi ukončením léčby a vyšetřením? Jak dlouho může efekt rosiglitazonu na expresi cytoadhezivních a trombogenních molekul po ukončení léčby přetrvávat?

Je známo a opakovaně potvrzeno, že zvýšené plazmatické koncentrace CRP (stále ovšem v mezích širší normy) jsou spojeny se zvýšeným rizikem aterosklerózy. V této studii se koncentrace CRP u diabetiků po léčbě rosiglitazonem významně snížily.

2. Je nějaké vysvětlení mechanismu, kterým PPAR- γ agonisté ovlivňují hladinu CRP? Jejich vliv na pokles TNF α byl popsán (a v této práci je také zmíněn). Nicméně TNF α sám o sobě se v regulaci CRP příliš neuplatňuje

3. Je CRP kauzálním rizikovým faktorem pro aterosklerózu a její komplikace, nebo je jeho přítomnost pouze markerem vyššího kardiovaskulárního rizika? Nebo je CRP nakonec protektivním faktorem bránícím rozvoji aterosklerózy? (viz např. Hanriot D et al., Thromb Haemost. 2008; 99: 558-69.)

P.M.

DR. PAVEL MARJANA 22. 4. 2010