

Posudek oponenta na diplomovou práci

Jméno posuzovatele: **RNDr. Petra Lukášová, Ph.D.**

Autor: **Bc. Gabriela Vacínová**

Název práce: **Diabetes mellitus 2. typu a Alzheimerova demence: studium společných patogenetických faktorů**

Cíle práce:

Alzheimerova demence (AD) i diabetes mellitus 2. typu (DM2) jsou témata velmi aktuální a důležitá a cíle předložené diplomové práce vycházejí z nejnovějších poznatků o vzájemné souvislosti těchto nemocí. Práce se dělí na dvě části. V biochemické části autorka stanovovala hladiny plazmatického visfatinu u pacientů s AD a zdravých kontrol a porovnávala, zda se jeho hladiny mezi skupinami liší a zda je patrný vliv pohlaví či porušené glukózové tolerance. Ve druhé, genetické části autorka zjišťovala, zda se frekvence polymorfismů v kandidátních genech pro AD (*APOE4* a *BINI*) liší u pacientek s gestačním diabetem a diabetem 2. typu od zdravé populace, a sledovala také asociaci rizikových alel obou polymorfismů se změnami v metabolismu glukózy (porušená glukózová tolerance a inzulínová rezistence).

Struktura práce:

Práce je přehledně členěna do jednotlivých kapitol a podkapitol: abstrakt v českém a anglickém jazyce včetně uvedených klíčových slov, úvod, cíle práce, literární přehled, materiál, metodika, výsledky, diskuze, závěr, použité literární a internetové zdroje, seznam zkratk a přílohy k výsledkům.

Rozsah práce je 91 stran včetně příloh. Cíle práce jsou formulovány jasně a konkrétně. Literární přehled je adekvátně stručný (18 stran) a výstižný, materiál a metodika jsou popsány chronologicky a srozumitelně včetně pracovních protokolů. Nejrozsáhlejší část práce tvoří výsledky (16 stran + 11 stran příloh). V diskuzi se opakují některé základní informace uvedené v literárním přehledu, nicméně jsou pak uvedeny do souvislosti s dosaženými výsledky. Závěr práce je koncipován výstižně.

Literární přehled:

Literární přehled je napsán přehledně a odpovídá tématu. Není přehnaně obsažný, přesto zahrnuje i nejaktuálnější poznatky o tématu. Podkapitoly jsou řazeny logicky.

První podkapitola se zabývá Alzheimerovou demencí – její patofyziologií, epidemiologií a rizikovými faktory – a podrobně popisuje studované geny *APOE4* a *BINI* a biochemický marker visfatin. Obdobně je strukturována i druhá podkapitola o diabetes mellitus. Závěrečná podkapitola je věnována inzulínové rezistenci, kterou popisuje jakožto společnou patofyziologii pro AD i DM2 a tím logicky sceluje jednotlivé části práce.

Materiál a metody:

Materiálová část popisuje studované soubory a v přílohách detailně uvádí jejich antropometrickou a biochemickou charakterizaci.

Metodika je napsána chronologicky a je rozdělena na část teoretickou, která vysvětluje princip použité metody, a praktickou, která popisuje konkrétní postupy pro získání uvedených výsledků. V práci byla použita řada metod – zjištění rodinné anamnézy DM2, podrobné antropologické vyšetření, biochemická vyšetření lipidového a glukózového metabolismu a výpočet indexů HOMAR a Matsuda indexu, ELISA metoda pro stanovení plazmatického

visfatinu a pět molekulárně-genetických metod (izolace DNA, PCR, elektroforéza, RFLP a RealTime PCR). Při statistickém hodnocení biochemické části byla nejprve provedena podrobná základní analýza dat, na jejímž základě pak autorka zvolila vhodnou statistickou metodu – neparametrickou analýzu rozptylu. Pro zjištění možného vlivu dalších parametrů musela být data transformována a byla použita vícefaktorová analýza rozptylu. Pro hodnocení frekvence polymorfismů byl použit Chí-kvadrát test.

Diskuze a závěr:

V diskuzi jsou výsledky řádně porovnávány s literaturou, nicméně celkově je diskuze dost stručná a spíše popisná.

V biochemické části práce je dostatečně diskutován prozánětlivý účinek visfatinu a je formulována hypotéza, že by visfatin jakožto prozánětlivý marker mohl přispět k diagnostice AD. Mělo by být uvedeno, že pro potvrzení hypotézy bude muset být provedena řada dalších, nezávislých studií.

V genetické části práce jsou citovány frekvence rizikové alely $\epsilon 4$ *APOE* genu v různých populacích, včetně populace české, ale není uveden komentář, zda frekvence zjištěné v této práci odpovídají citovaným údajům. Ani frekvence minoritní alely polymorfismu rs744373 v genu *BINI* není porovnána s frekvencí v evropské populaci.

Bylo by také vhodné uvést zamyšlení, proč byl patrný vliv rizikové alely $\epsilon 4$ *APOE* genu na lipidový metabolismus pouze u kontrolního souboru jedinců.

V závěru práce autorka stručně shrnula zjištěné výsledky z obou částí diplomové práce.

Použité literární zdroje:

Seznam použité literatury je řazen abecedně a plně odpovídá tématu, sestává ze 106 literárních a 4 internetových zdrojů, což je více než dostačující počet pro diplomovou práci. Citace jsou v textu řádně uvedeny. Oceňuji, že kromě původních prací (např. ohledně indexů inzulinové rezistence (Matthews et al., 1985) resp. senzitivity (Matsuda and DeFronzo, 1999)) byly použity i recentní zdroje (např. prevalence AD (www.alzheimer.cz, 12. 3. 2014), prevalence DM2 v České republice (www.diabetickaasociace.cz, 20. 2. 2014), či popis genu *BINI* (Prokic et al., 2014)).

Úroveň práce:

Jazyková úroveň práce je velmi dobrá, bez překlepů a gramatických chyb, pouze občas se vyskytují krkolomné formulace, kdy je patrný vliv překladu z angličtiny (např. „Inzulín je hormon snadno transportovatelný do CNS přes krevní mozkovou bariéru díky přenašečům.“, str. 29)

Grafická úroveň práce je výborná, tok textu je jednotný, obrázky jsou názorné a kvalitně graficky upravené, tabulky jsou přehledně zpracované a nechybí v nich uvedení počtů jedinců ve studovaných souborech, ani uvedení jednotek u jednotlivých parametrů.

K formální stránce práce mám několik upozornění:

1. V literárním přehledu chybí citace obrázků 1 (str. 14) i 2 (str. 21) v textu. V metodice také chybí (kromě obrázku 4) ocitování obrázků v textu (Obr. 3, 5, 6 str. 38, 40, 41).
2. V podkapitole 3.2 (DM) jsou přehozené podkapitoly „Rizikové faktory diabetu“ a „Diagnostika a symptomy DM2“ oproti podkapitole 3.1 (AD), kde se mi řazení podkapitol zdá logičtější (nejdříve diagnostika, až poté rizikové faktory onemocnění).
3. Ve výsledcích je uváděna minoritní alela polymorfismu rs744373 v genu *BINI* jako „riziková“. Zatím jedinou potvrzenou rizikovou alelou pro AD je $\epsilon 4$ *APOE* genu, v literárním přehledu a diskuzi je použité správné označení „minoritní alela“.

Splnění cílů práce a celkové hodnocení:

Cíle předložené práce byly zcela splněny.

Téma práce je velmi aktuální a je zpracováno kvalitně, neotřelým, inovativním způsobem. Přestože je práce rozdělena na dvě části, působí uceleným a přehledným dojmem.

Celkově považuji předloženou diplomovou práci po obsahové stránce za nadprůměrnou, svým rozsahem by obstála i jako práce dizertační. Přes drobné formální nedokonalosti se jedná o velmi kvalitní diplomovou práci.

Diplomovou práci doporučuji hodnotit klasifikačním stupněm „výborně“.

V Praze dne 28. 8. 2014

Podpis oponenta:

Otázky a připomínky oponenta:

1. Rozsah práce je opravdu široký – jak jste se Vy osobně podílela na zpracování tématu? (Účast na sběru dat a krevních vzorků od pacientů a kontrol, na antropometrickém měření, stanovování biochemických parametrů a provádění molekulárně-genetických metod.)
2. Hodnotila jste visfatin jakožto prozánětlivý marker, stanovovali jste i další parametry zánětu, které by mohly „odstínit“ přítomnost možného zánětlivého procesu u jedinců s vyššími hladinami visfatinu?
3. Čím si vysvětlujete, že vliv rizikové alely $\epsilon 4$ v genu *APOE* na lipidový metabolismus byl zjištěn pouze u kontrolního souboru jedinců s normální glukózovou tolerancí?