

Oponentský posudek

na doktorskou disertační práci MUDr. Denisy Janíčkové –Žďárské

Vztah autoimunity a cytokinů ke klinickým aspektům DM 1. typu

Oborová rada Fyziologie a patofyziologie člověka UK- 2.LF

Všeobecná charakteristika práce:

Práce se zabývá velmi aktuální tématem cytokinů a růstových faktorů u diabetu 1. typu a u diabetické nefropatie. Práce je poměrně velmi stručná a rozdělená do dvou částí o pouhých 53 stranách včetně literatury a seznamu vlastních publikací. Nevyužívá přitom možnosti zahrnutí vlastních prací do textu práce. Práce má klasické členění obou částí a prezentuje vždy 2x cíle, soubor, metody, výsledky, diskuse a závěry.

Hlavní výsledky:

Autorka uvádí následující významné výsledky:

1. TGF beta1 stoupá již u diabetu 1. typu bez nefropatie,
2. Vzestup TGF beta1 i VEGF je přítomen ve fázi incipientní nefropatie.
3. Oba růstové faktory neklesají při léčbě ACE inhibitory.
4. Cystatin C je zvýšen ve fázi incipientní nefropatie a klesá během léčby ACE inhibitory
5. TGF beta1 koreluje s parametry aktuální i chronické kompenzace diabetu
6. Dysregulace cytokininů je jedním z mechanismů přispívajících k rozvoji mikrovaskulárních komplikací.
7. V prevenci specifických diabetických komplikací je třeba zajistit stabilitu glykemií během celých 24 hodin.

Připomínky k práci:

1. Název práce nevystihuje její obsah. Pokud pochází z přihlášky ke studiu, mělo být včas požádáno o změnu tématu. Autorka se autoimunitou v práci přímo nezabývá. Jde sice jistě o soubor diabetiků 1. typu, není však charakterizován žádnými parametry přítomnosti či aktivity autoimunitního procesu. Zabývá se výhradně nespecifickou imunitou- aktivitou růstových faktorů a cytokininů.

2. Na mnoha místech práce není uvedena citace v místech, kde by ji čtenář původního vědeckého textu očekával a místy jsou místo originálních citací nepřímo citovány české monografie. Relativně málo jsou citovány práce z posledních 5 let (od roku 2002- výrazně pod polovinu citací).
3. K spíše formálním nedostatků patří např. nevysvětlení všech zkratk u obrázků, nestejně označení skupin v různých částech práce. Při popisu variability zkoumaných skupin je vhodnější uvádět směrodatnou odchylku (SD), která vystihuje variabilitu dat ve zkoumaném vzorku, spíše než standardní chybu (SE), která popisuje variability výběrových statistik (zde průměru). Před použitím parametrických statistických metod by bylo vhodné otestovat normalitu (a uvést použitý test).
4. V práci je diskutována úloha hyperglykémie ve vztahu ke specifickým diabetickým komplikacím a konfrontována s úlohou cytokininů. Nikde ani v diskusi není zmínka o diabetu 2. typu, přestože právě u tohoto onemocnění by byla úloha samotné hyperglykémie bez autoimunity nejlépe porovnatelná.
5. V tabulce 6.1.1 a 7.1.1 není uvedeno statistické porovnání všech skupin ve všech parametrech. Soubory se pravděpodobně liší i v zastoupení mužů a žen (autorka sama připouští nižší VEGF u mužů) v BMI a dalších parametrech.
6. Není také jasný vztah skupiny III a podskupiny III v obou tabulkách charakteristiky souborů. V druhé tabulce je počet pacientů o 3 vyšší a některé průměry a SD jsou zcela stejné, což je velmi nepravděpodobné. Bylo by vhodné uvést výskyt diabetické retinopatie, která jistě rovněž může sledované parametry ovlivnit.
7. Statistické hodnocení ve schématech 1.-4 prezentuje vzájemné srovnání 5 skupin (směsice typicky nepárového srovnávání mezi nezávislými skupinami a vývoje parametrů v čase u jedné skupiny, tedy typicky párové uspořádání - pacient je sám sobě kontrolou). Není úplně jasné, jak a jakými statistickými metodami byly výpočty provedeny. Použití těžké statistické metody bych považoval za statisticky nekorektní. Srovnání nezávislých skupin na jedné straně a párové srovnání vývoje po ACE inhibitoru na straně druhé by mělo být provedeno zvlášť.
8. V každém případě pro párové hodnoty v části s podáváním ACE inhibitorů není možné využít Kruskal Wallisův test a vhodná je ANOVA s opakovanými měřeními (ať už parametrická nebo neparametrický Friedmanův test).
9. Použitý pojem Fisherovo vícenásobné porovnání není obvyklý, pravděpodobně jde Fisherův LSD test.

10. Je logické, že o něco konservativnější Bonferroniho adjustace zjistilo méně signifikancí než Fisherův test. Jak konkrétně bylo provedeno srovnání dvou skupin např. v tabulce 6.2.1 a dalších není zřejmé. Současné použití Fisherova LSD a Bonferroni adjustace se jeví jako zbytečné.
11. U tabulky 6.2.2 není jasné, zda jde o pouhý výpis z předchozích schémat či skutečně samostatný výpočet, právě zde se nehodí Kruskal Wallisův test. Navíc v hlavičce se uvádí, že jde o výpis signifikantních změn, což zjevně není pravda (viz NS níže v tabulce).
12. Ještě větší nejasnosti jsou v části 2. Není jasné, které skupiny se týká tabulka 7.2.2. Matici Spearmanových korelačních koeficientů lze v každém případě považovat pouze za explorativní statistiku, která by vyžadovala další confirmaci.
13. Tabulka 7.2.3 neukazuje výsledky faktorové analýzy v obvyklé formě. Faktory bývají obvykle ve sloupcích a v řádcích zahrnuté proměnné. Také není jasné, jaké, které skupiny se tabulka týká.- v hlavičkách je obvyklé uvádět alespoň n- počet pacientů. Použití faktorové analýzy se v tomto kontextu jeví jako zcela zbytečné.
14. Je diskutován výrazný pokles HbA1c a bylo by proto zajímavé posoudit, nakolik koreluje změna sledovaných parametrů se změnou HbA1c a zda nesledujeme spíše vliv změny tohoto parametru než vliv léčby ACE inhibítorem.
15. V interpretaci tab. 7.2.2 je třeba uvážit korelace HbA1c, glykémie a mikroalbuminurie vzájemně, které mohou další korelace ovlivnit. Testována je odlišnost korelačních koeficientů od nuly nikoli vzájemně. V diskusi jsou však srovnávány korelační koeficienty vzájemně.
16. V tabulce 7.2.3 je také nejasné čemu zde autorka říká korelační koeficient vyjádřený v %.
17. Lze rovněž konstatovat, že v práci není jasný sled výsledků vedoucí od cílů k závěrům.

Dotazy k práci:

1. Prosím autorku o upřesnění statistických metod a o vyjádření s souborům použitým v obou částech práce (porovnání skupin) a k použité skupině s incipientní nefropatií v obou částech práce.
2. Prosím autorku o nezávislé porovnání skupin a porovnání vývoje po léčbě ACE inhibítorem. Tedy oddělené provedení párových a nepárových testů
3. Nutné je doplnění statistického posouzení toho, jak pevně je při léčbě ACE inhibítorem vázána změna sledovaných parametrů u jednotlivých pacientů vázána na změnu HbA1c.

4. Prosím o uvedení kompletních výsledků faktorové analýzy a vysvětlení za jakým účelem byla faktorová analýza použita.
5. Prosím autorku o vyjádření k výše citovaným závěrům v posudku označeným jako 5, 6 a 7, které jsou podle mého názoru z práce těžko odvoditelné.

Závěr:

Schéma práce bylo zvoleno velmi dobře. Data shromážděná v práci zcela jistě kvalitní a postačují jako podklad ke kvalitní doktorské práci. Jak jsem uvedl výše mám výhrady k statistickému zpracování a domnívám se, že některé uvedené závěry z analýz nevyplývají přesvědčivě. Navrhuji přepracování práce, po kterém by mohla být brzy prezentována kvalitní doktorská práce bez potřeby získávání dalších dat či dalších souborů pacientů. Za možné považuji i následující řešení: V případě, že autorka při obhajobě bude prezentovat nové statistické zpracování a upravené závěry sdělím při obhajobě ústně, zda autorka splnila podmínky stanovené v řádu postgraduálního studia Biomedicíny a zákonné podmínky podle zákona o vysokých školách č.111/1998 a doporučím, aby MUDr. Denise Janíčkové-Žďárské byl udělen titul PhD.

V Praze 2.11.2007

Prof. MUDr. Štěpán Svačina DrSc.
III. interní klinika UK-1.LF v Praze