

Praha, 13.8.2007

Věc:

**Posudek na kandidátskou práci Mgr. K. Zídkové „Výzkum variability
transkripčních regulačních oblastí LPA genu“**

Dizertační práce Mgr. K. Zídkové „Výzkum variability transkripčních regulačních oblastí LPA genu“ se zabývá studiem regulační oblasti genu (LPA) pro „lipoprotein malé a“ [Lp(a)], který je znám jako rizikový faktor kardiovaskulárních onemocnění. Použité metody jsou vzhledem k položeným otázkám zvoleny adekvátně a odpovídají současným požadavkům molekulární genetiky. Výsledky posunují znalosti o dědičném ovlivnění Lp(a) na úrovni základního výzkumu, prozatím bez možnosti praktických klinických aplikací.

Práce je po formální stránce bez závažných nedostatků, nicméně s drobnými výhradami -

1/ V „Summary of PhD Thesis“ chybí podrobnější informace (v porovnání se zbytečně detailním popisem podmínek PCR reakcí) o sekvenování.

2/ Do vlastních výsledků je chybně zařazeno několik stran protokolů jednotlivých prováděných pokusů, které patří do části metodické.

Práce je uvedena téměř 30-stránkovým přehledem literatury. Tento přehled dostatečně popisuje současný stav znalostí o LPA genu.

Aspirantka Mgr. K. Zídková zvládla všechny metody nutné k řešení genetických studií (izolace DNA, PCR, restriční analýza, elektroforézy DNA, metodiky nutné pro detekci neznámých genetických variant, DNA sekvenaci) i statistické zpracování výsledků. Interpretace výsledků by mohla být rozsáhlejší.

Hlavní výsledky práce již byly publikovány v zahraničních impaktovaných časopisech (*Clinica Chimica Acta* a *Clinical Biochemistry*) a přijaty do tuzemského periodika (*Vnitřní Lékařství*). Vzhledem k tomu, že obě práce vyšly v roce 2007, je příliš brzy na to, zjistit jejich citovanost. Výsledky byly dále presentovány na několika tuzemských i mezinárodních kongresech.

Práci je nicméně nutné vytknout následující –

1/ Rozsáhlejší mohla být část o vlastním proteinu, Lp(a), který je genem LPA kódován. Styl psaní je značně kostrbatý, text se čte poměrně obtížně i díky nadměrnému rozčlenění do desítek kapitol a kapitolék minimálního rozsahu. V mnoha případech je daná skutečnost popisována rozvláčně a opakovaně (např. II.2.3.3.2.3. - *...má nižší průměrnou koncentraci...s preferencí jedinců s nízkými hodnotami...*; V - *...byly pozorovány u evolučně starých populací...a lze tedy usuzovat na jejich evoluční stáří...*); a plynulosti textu by prospělo více českých slov. Některé věty nedávají příliš smysl - např. ve II.2.3.3.2 *...prokázaly nejednotnost hodnot parametrů charakterizujících koncentraci Lp(a) mezi základními lidskými etniky...* by se dalo patrně podstatně srozumitelněji (pokud jsem tedy správně pochopil, co chtěl pisatel říci) vyjádřit jako *... koncentrace Lp(a) se liší mezi základními etniky...* atd.

2/ Je sice správně zmíněno, že jako první odhalila spojitost mezi Lp(a) a koronárním onemocněním norská skupina okolo prof. K. Berga, v seznamu literatury však není uveden ani jeden z mnoha jejich článků.

3/ V porovnání s velice rozsáhlou (a někdy až zbytečně podrobnou) částí metodickou, jsou poměrně stručné textové části vlastních výsledků a diskuse.

Např. vzhledem k tomu, že je uvedena více než 90% determinace Lp(a) genem pro LPA, je zarážející skutečnost, že prakticky všechny detekované varianty genu se objevily ve všech analyzovaných podskupinách, jak ve skupině s nejnižším, tak ve skupině s nejvyšší koncentrací Lp(a) – z toho lze usuzovat, že značná proporce genetické determinace Lp(a) může ležet mimo oblast genu LPA. Tato skutečnost však není v práci nijak diskutována.

4/ Nedostatečný je popis sledovaného souboru – chybí např. informace, zda vybraní jedinci byly nějak léčeni. Existují studie, které popisují vliv statinů nebo vliv estrogenů na Lp(a). Rovněž bylo popsáno, že u žen stoupá hladina Lp(a) s věkem - byla tato skutečnost nějak při výběru/rozřazení jedinců zohledněna? Počet jedinců v jednotlivých kvintilech by měl být cca stejný – z jakého důvodu je v kvintile 5 o téměř 50% jedinců více, než v kvintile 2?

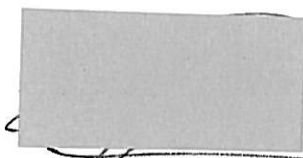
5/ Pokud je Lp(a) rizikovým faktorem ICHS/CAD/MI, jak lze vysvětlit fakt, že nejnižší incidence ICHS je ve skupině s hladinami Lp(a) 25-64 md/dL a druhá nejvyšší incidence u jedinců s nejnižšími hladinami?

6/ Pro větší přehlednost by bylo vhodné logicky spojit řadu informací oddělených v různých subkapitolách výsledků a metodik. Rovněž tak uspořádání výsledků - odkázat v jedné tabulce (např. 4.3) na tabulky následující místo kompletního uvedení výsledků nepřispívá k snadné orientaci v disertační práci.

7/ Při genetických analýzách větších souborů je výjimečné, že se podaří genotypizovat 100% jedinců pro všechny analyzované varianty. Obvykle se CR pohybuje mezi 94-98%. Je skutečně pravda, že bylo bez výjimky vždy úspěšně genotypizováno všech 976 jedinců?

8/ Nejsou přiloženy kopie abstrakt (článků) z jednotlivých sborníků, ani text publikace přijaté do Vnitřního Lékařství či odeslané do Časopisu Lékařů českých.

Přes výše zmíněné výtky předložená dizertační práce „*Výzkum variability transkripčních regulačních oblastí LPA genu*“ prokazuje, že Mgr. Kateřina Zídková má předpoklady k samostatné vědecké práci a doporučuji udělení titulu Ph.D.



Ing. Jaroslav Hubáček, CSc.