

Oponentský posudek disertační práce MUDr. Markéty Kratochvilové

„Oxidační a karbonylový stres u onemocnění ledvin“

Předložená disertační práce má 105 stran s tabulkami (celkem 5), grafy (celkem 8) a dvěma obrázky, autorka v práci cituje 183 recentních publikací. V příloze jsou uvedeny 4 práce in extenso, které byly publikovány v časopisech s vysokým impakt faktorem (např. Am J Kidney Dis). Práce byla vypracována na Klinice nefrologie a na Ústavu klinické biochemie a laboratorní diagnostiky 1. lékařské fakulty UK a VFN pod vedením Prof. MUDr. Vladimíra Tesaře, DrSc. a Prof. MUDr. Marty Kalousové, Ph.D.

Disertační práce je členěna tradičně. V úvodu na 20 stranách autorka zpracovala základní informace o biochemii oxidačního a karbonylového stresu, a dále se věnovala přehledu informací o nefropatiích a podocytech. Cílem práce MUDr. Kratochvilové bylo a) stanovení a sledování hladin AGE a sRAGE u pacientů s nefropatiemi, b) optimalizace kultivace podocytů, c) zavedení metody ke stanovení podocyturie, d) stanovení podocyturie u pacientů s nefropatiemi a s proteinurií.

Kapitola Materiál a metody je zpracována detailně na 20 stranách textu přehlednou formou. Jsou popsány základní a kontrolní soubory, uvedeny jsou klinické, demografické a laboratorní údaje. V kapitole se autorka věnuje popisu měření na spektrofluorimetru, stanovení sRAGE metodou ELISA, přípravy primokultur a pasážování (techniky buněčných kultur) a popisu imunocytochemického stanovení podocytů pomocí podocytárních markerů jaderného WT-1 a cytoplasmatického synaptopodinu. Samostatnou kapitolu autorka věnovala také stanovení podocytů v moči pomocí průtokové cytometrie s využitím komerčních monoklonálních protilátek, např. proti podocalyxinu. Popis vyhodnocovacích a statistických metod a počítačových programů je neobvykle umístěn uprostřed kapitoly Materiál a metodika. Použité statistické metody jsou správné.

Stěžejními částmi práce jsou výsledky (14 stran) a diskuse (24 stran), v kterých autorka kriticky analyzuje zjištěné a naměřené výsledky jak v jednotlivých souborech pacientů, tak v experimentální části práce. Výsledky jsou také vhodně zpracovány do tabulek, grafů a barevných obrázků. Za velmi zdařilou kapitolu považují diskusi, kde autorka podrobně a kriticky hodnotí dosažené výsledky a diskutuje je s ohledem na jiné publikované práce. V kapitole Závěry autorka jasně a přehledně formuluje dosažené výsledky, z kterých vyplývá, že cíle práce byly splněny.

Autorka se spolupracovníky potvrdila, že hladiny AGE závisejí více na renální funkci než na typu nefropatie a že jsou ovlivněny nutričními parametry a hemoglobinem. Jako první prokázala, že koncentrace sRAGE úzce koreluje s renální funkcí. Autorka také zavedla novou optimalizovanou techniku kultivace podocytů jako zdroj buněčné kultury k dalším experimentům a potvrdila, že podocyurie stanovená průtokovou cytometrií koreluje s aktivitou renálního onemocnění.

Po jazykové a grafické stránce je práce napsána na velmi dobré úrovni. V práci se objevují ojedinělé gramatické chyby, např. na str. 53 má být správně: po 14 dnech terapie (bez ti), cca 20 ml moče (nutná mezera), z 24hodinového sběru (bez mezery). Výjimečné jsou také stylistické a syntaktické neobratnosti, např. na str. 68 celá věta třetího odstavce, za slovem podocyty musí být alespoň čárka.

Závěrem lze konstatovat, že práce MUDr. Markéty Kratochvilové se zabývá velmi aktuální problematikou aplikovaného výzkumu se vztahem ke klinické medicíně. Práce splňuje požadavky disertační práce a přináší celou řadu nových poznatků, které byly publikovány v impaktovaných časopisech. MUDr. Kratochvilová prokázala schopnost samostatné vědecké práce.

Otázky k obhajobě:

1. Jaký je fyziologický význam megalinu a podocalyxinu?, 2. Z čeho jste usoudila, že koncentrace AGE odpovídá fluorescenční intenzitě v emisním spektru právě při 435 nm?, 3. Proč jste pro výpočet eGFR použila rovnici MDRD a nikoliv CKD-EPI?

Dle výše uvedených skutečností doporučuji, aby byl MUDr. M. Kratochvilové na základě úspěšné obhajoby disertační doktorské práce udělen titul Ph.D.

Praha, 19. 8. 2016

Prof. MUDr. Richard Fuša, CSc.

KARLOVA V PRAZE
2. lékařská fakulta
Ústav lékařské chemie a klinické biochemie
V Úvalu 84, 150 06 Praha 5
IČ: 00216208 DIČ: CZ00216208