

Oponentský posudek disertační práce ing. Terezie Sedláčkové

"Změny metabolismu železa a jeho regulace u nemocných v konečné fázi onemocnění ledvin léčených hemodialýzou a transplantací ledviny"

Předložená disertační práce má 70 stran, 14 obrázků, 13 tabulek a 126 citací.

Přeložená disertační práce byla vypracována na Ústavu klinické biochemie a hematologie LF UK v Plzni a FN Plzeň ve spolupráci s Klinikou nefrologie IKEM Praha a odběr vzorků též probíhal na hemodialyzačním středisku FN Plzeň a dialyzačním středisku Avitum Plzeň.

Předložená práce zahrnuje poznatky disertantky z problematiky metabolismu železa a regulujících molekul u chronického selhání ledvin. Práce je klasicky tříděna a obsahuje originální poznatky autorky a spolupracovníků.

Po stručné úvodní kapitole následuje obsáhle zpracovaný přehled současných poznatků o železe a hepcidinu, jejich úloze v organismu, metabolismu, jejich vztazích k transportním či regulujícím molekulám – ferropontin, ferritin pod. Pečlivě je zpracován metabolismus železa v jednotlivých kompartmentech – organelách. V oblasti regulace železa autorka popisuje regulaci jak na úrovni buněčné, tak systémové a plynule navazuje na novou a intenzivně studovanou molekulu hepcidin. Věnuje se regulaci hepcidinu za různých patofyziologických stavů – hypoxie, anémie, deficit železa a u různých onemocnění. Popisuje problematiku stanovení hepcidinu imunochemickými metodami a technikou SELDI-TOF/MS.

V další části úvodu se věnuje možnosti ovlivnění koncentrace či exprese hepcidinu různými látkami – protilátky, lipokaliny, inhibitory BMP6 kaskády a další.

Hlavní část práce je část 3 – experimentální část, kdy na úvod si autorka stanovuje hypotézy a cíle, které bude řešit prostřednictvím 3 studií, uvádí zároveň adekvátní statistické postupy. Pacienti jsou u každé studie jasně definováni, jsou uváděny důvody, pro které byli případně pacienti vyřazeni ze studie a též souhlas místní etické komise včetně prohlášení o informovaném souhlasu pro pacienty.

První studie realizovaná u hemodialyzovaných pacientů byla zaměřena na ověření a metodik stanovení hepcidinu a jeho vztahů k parametrům metabolismu železa – železo, transferin, ferritin, solubilní transferinové receptor, CRP a vzájemným korelacím analytů.

Druhá studie se 178 hemodialyzovanými pacienty navazuje na první studii, kdy dochází k výrazně většímu počtu pacientů též rozšíření spektra vyšetřovaných analytů – IL-6, albumin. Autorka studuje též vliv provedení dialýzy – ráno poledne a večer z hlediska možného diurnálního rytmu železa a hepcidinu.

Třetí studie je zaměřena na změny hepcidinu a parametrů metabolismu železa po transplantaci ledvin, do které bylo zařazeno 90 pacientů IKEM Praha a hodnoceno bylo 71 pacientů. Studie sledovala změny v čase po transplantaci od provedení transplantace po poslední odběr po 6 měsících. Autorka dává do korelací jednotlivé parametry a sleduje a komentuje jejich závislost.

V části diskuse jsou komentovány publikované výsledky o problematice metabolismu železa a hepcidinu u pacientů nejen s onemocněním ledvin a vlastní výsledky jsou kriticky hodnoceny k publikovaným výsledkům. Autorka též upozorňuje na limitaci svojí práce – problematika srovnání transplantovaných pacientů, kteří jsou v různých ambulancích po propuštění z IKEM a také upozorňuje na analytické úskalí stanovení hepcidinu různými soupravami.

Část závěr je z části zopakování výsledků jednotlivých studií a odpovědí na stanovené cíle práce. Jsou zde vyjmenovány korelace jednotlivých parametrů navzájem. Na závěr je shrnutí změn a významu hepcidinu u renálního selhání a jeho multifaktoriální ovlivnění.

K dizertantce mám následující připomínky:

- 1/ citace č. 13 odkazuje na Wikipedii a vhodnější je citovat primární práci popisující objev ferritinu Lauffbergem (str. 8)
- 2/ na straně 8 autorka odkazuje na tabulku 4, která je tabulka č. 2 a tento rozdíl v číslování přetrvává až do konce disertace.
- 3/ Bylo by vhodnější obrátit pořadí v cílech – „studii ověřit hypotézu ale hypotézu ověřit studií...“
- 4/ kapitola 3.4.5.3 Repeated ANOVA by měla mít vhodnější název

K dizertantce mám následující dotazy:

- 1/ Jaké jsou současné aktuální poznatky o možnosti terapeutického ovlivnění osy hepcidin-ferropontin ?
- 2/ Můžete pospat, proč nakonec byla zvolena kraličí protlátka, a proti jaké části molekuly hepcidinu resp 25-, 20-, či 22 hepcidinu.
- 3/ Můžete zdůvodnit rozdílné výsledky koncentrace hepcidinu u relativně podobných skupin pacientů v jednotlivých studiích – median 141 (29-202), 21 (9-36), 54-68 (39-81).
- 4/ Jakými mechanismy alkohol vyvolává zvýšení zásob železa v organismu a jaká je role hepcidinu ?

Závěrem lze hodnotit, že dizertace se zabývá aktuální problematikou aplikovaného biochemického výzkumu se vztahem ke klinické medicíně - nefrologii. Na práci hodnotím design tří klinických studií a komplexnost řešení uvedené problematiky. Práce přinesla nové poznatky a její výsledky mohou být využity v klinické medicíně.

Na základě výše uvedených skutečností lze konstatovat, že ing. Terezie Sedláčková prokázala schopnost samostatné vědecké práce. Doporučuji proto, aby na základě úspěšné obhajoby doktorandské disertační práce jí byl udělen titul PhD.

Praha, 1. srpna 2013

Prof. MUDr. Tomáš Zima, DrSc.
přednosta Ústavu lékařské biochemie
a laboratorní diagnostiky 1. LF UK a VFN
Praha