

Posudek doktorské disertační práce

MUDr. Emilie Vyhnálkové roz. Mikešové

téma

Molekulárně genetická vyšetření u autozomálně dominantních demyelinizačních forem dědičných neuropatií Charcot-Marie-Tooth a u choroby Pelizaeus-Merzbacher

Disertační práce je věnována genetickému výzkumu v populaci nejčastějšího nervosvalového onemocnění - hereditární motoricko-senzorické neuropatii (Charcot-Marie-Toothova choroba). Jde o onemocnění geneticky i fenotypicky heterogení zahrnující pacienty od frustrních subklinických forem až po velmi těžký motorický handicap vedoucí k celoživotní invalidizaci. Téma je proto velmi aktuálně zvoleno a práce, zaměřená na genetickou problematiku, má mimořádný význam i z hlediska klinického.

Cílem disertační práce bylo

- určit relativní zastoupení typů dědičnosti v celkovém souboru 1500 rodin s Charcot-Marie-Toothovou (CMT) chorobou v databázi DNA laboratoře Dětské neurologické kliniky 2. LF UK
- zjistit relativní zastoupení typů dědičnosti ve skupině CMT rodin s dosud nenalezenou kauzální mutací
- vyšetřit spektrum genů asociovaných s autozomálně dominantními formami CMT1, případně i CMT2.

Pozornost byla zaměřena zejména na

1. mutace v proteinových komponentách (gen PMP 22)
 2. mutace v transkripčních faktorech regulujících geny kódující myelinové proteiny (gen pro early growth response 2 faktor, EGR2)
 3. mutace v neuronálních cytoskeletálních komponentách ovlivňující axonální transport (gen pro neurofilament light chain gene, NEFL)
 4. mutace ovlivňující syntézu, třídění nebo degradaci proteinů v myelinizujících buňkách (gen pro small integral membrane protein of the lysosome/late endosome, SIMPLE)
- provést korelaci genotypu a fenotypu zmíněných mutací
 - zavést a ověřit spolehlivost metody real-time PCR u nejčastěji se vyskytujících mutací (duplikací a delecí genu PMP22) u autozomálně dominantních forem CMT1A a tomakulózní neuropatie (HNPP)

Struktura a členění práce:

Vlastní práce obsahuje 106 stran textu (včetně literatury), přehled publikační a přednáškové činnosti autorky, životopisné údaje a jako přílohu 3 IF publikace v zahraničních časopisech (celkový IF 7.84). Disertační práce je členěna obvyklým způsobem na úvodní kapitulu, vytyčeny jsou jednotlivé cíle studie, podrobněji je probrán soubor pacientů a použita metodika i relativní zastoupení typů dědičnosti u sledovaných CTM rodin. Největším přínosem autorky je zavedení přímého sekvenování genů ERG2, NEFL a SIMPLE v české populaci, u kterých vymezila účelnost genové analýzy podle klinického typu CMT a charakteru dědičného přenosu. Další kapitola je věnována testování CMT1A a HNPP pomocí real-time PCR a závěrečnému zhodnocení, které ukazuje, že uvedené metodiky přispěly k objasnění příčiny onemocnění u 12 rodin. Poslední část disertační práce je věnována využití a ověření validity diagnostické metody nejčastější mutace – PLP1 duplikace - u leukodystrofie Pelizeus-Merzbacherova typu. Vlastní výsledky jsou v každé kapitole

adekvátně diskutovány. Literární údaje obsahují 103 citací, ve kterých převažují práce z posledních let.

Formální úroveň práce:

Obrazová dokumentace obsahuje 46 ilustrací a 5 grafů, které zahrnují relevantní údaje v legendě a odpovídající vysvětlení v textové části, dále je zpracováno celkem 17 tabulek. Dokumentace je velmi dobré technické kvality, formulace textu jsou logické, výstižné a psány velmi dobrou češtinou, žádné překlepy se neobjevují.

Splnění cílů práce a celkové hodnocení:

Již z předchozího hodnocení vyplývá, že disertační práce svědčí o mimořádných schopnostech autorky. Zabývá se aktuální tematikou molekulárně genové analýzy jednoho z nejčastěji se vyskytujících nervosvalových onemocnění, což je velmi přínosné pro klinickou praxi. I když se nepodařilo stanovit přímé korelace mezi genotypem a fenotypem, přínos genové analýzy je významný i pro prenatální diagnostiku. Cíle, které si autorka stanovila, byly zpracovány vyčerpávajícím způsobem.

Dotazy:

- Při značné části výsledků byly použity finanční zdroje z grantových projektů, zejména IGA MZ ČR. Je reálné rutinní vyšetřování nemocných i bez těchto finančních zdrojů?
- Bylo provedeno statistické hodnocení standardizované tíže klinického postižení s genotypickým nálezem?
- Jaký je mechanismus terapeutického účinku vit. C u pacientů s CMT a zda tento efekt je různý dle odlišného genotypického postižení?

Závěr:

Disertační práce MUDr. Emilie Vyhnálkové roz. Mikešové na téma „Molekulárně genetická vyšetření u autozomálně dominantních demyelinizačních forem dědičných neuropatií Charcot-Marie-Tooth a u choroby Pelizaeus-Merzbacher“ podává ucelený obraz o úrovni genetického poznání Charcot-Marie-Toothovy choroby a vzácnější poruchy myelinu – leukodystrofie Pelizaeus Merzbacherova typu a přináší cenné originální výsledky. Po obsahové i formální stránce splňuje všechny předpoklady kladené na Ph.D. disertační práci a proto doporučuji její kladné přijetí jako podklad obhajoby. Z příloženého životopisu i publikační přílohy je patrné, že Dr. Vyhnálková je vyzrálou osobností s erudicí klinického genetika i neurologa a má všechny předpoklady pro další vědeckou tvůrčí práci.

V Praze dne 18.9.2007

Prof. MUDr. Soňa Nevšimalová, DrSc.
Neurologická klinika 1. LF UK Praha