

Oponentský posudek disertační práce

Název disertační práce:

Genetické vyšetření u pacientů s hypertrofickou kardiomyopatií

Autor disertační práce:

MUDr. Jiří Bonaventura, 5. ročník kombinované formy DSP Preventivní medicína na 2. LFUK

Oponent:

prof. MUDr. Radek Pudil, Ph.D., 1. interní kardiologická klinika LFUK a FN, Hradec Králové

Základní charakteristika disertační práce:

Disertační práce zahrnuje 78 stran textu, z nichž je 10 stran recentních literárních pramenů (112 citací, 49 pochází z posledních 5 let). Práce má obvyklé členění.

Úvodní část a přehled dosavadních poznatků zahrnuje 24 stran textu. Disertant předkládá základní data o onemocnění, následně se logicky soustředí na roli genotypu a genetického vyšetření (včetně genetického screeningu a diagnostické výtěžnosti genetického vyšetření). Autor zde dokazuje znalost problematiky, jeho bohaté vlastní zkušenosti s tímto onemocněním, které vycházejí z dlouhé tradice jeho kliniky při řešení výzkumných otázek spojených s onemocněním hypertrofické kardiomyopatie.

V této oblasti mám jen drobná upřesnění:

- ad definice (str.6): podle současných doporučení (AHA doporučení 2020) je HCM definována nadměrným zesílením tloušťky stěny levé komory srdeční při nepřítomnosti nejenom hemodynamické příčiny, ale také systémového či metabolického onemocnění, které by mohlo tento obraz způsobit (ne tedy hypertrofie pouze z hemodynamických příčin)
- ad patofyziologie (str. 11): ve výčtu patogenetických procesů absentuje relativně nový poznatek – dysfunkce autonomního nervového systému, která postihuje až 25% pacientů s HCM a projevuje se nedostatečným vzestupem tepové frekvence a krevního tlaku při zátěži (podle současných poznatků se na tom nepodílí pouze obstrukce LVOT, ale také změna mechaniky při poruše diastolické funkce levé komory a dysfunkce autonomního nervstva sama o sobě).

Druhá část zahrnuje cíle práce. Autor předložil základní hypotézu: Existují klinické a morfologické charakteristiky HCM, které souvisí s pozitivním genotypem. Jako „vedlejší hypotézu“ formuloval: „zařazení velkého počtu genů do diagnostického panelu by mohlo vést k vyšší výtěžnosti molekulárně genetického vyšetření“. Z těchto hypotéz odvodil a formuloval cíle práce: Primární cíl: vyšetření molekulárně genetického podkladu HCM u pacientů v České republice. V textu lze dále identifikovat další cíle: „identifikace klinických a morfologických charakteristik, které souvisí s pozitivním výsledkem molekulárně genetického vyšetření (G+, nález P/LP varianty). V dalším textu jsou uvedeny cíle: vyšetřit u pacientů pomocí NGS až 229 genů asociovaných s kardiovaskulárními onemocněními (zahrnující i všechny dosud známé geny asociované s HCM) a zhodnotit jejich patogenitu za použití striktních ACMG kritérií. Dále si autor „dal za cíl zjistit, jestli predikce pomocí Mayo Score bude fungovat i za těchto podmínek“. Dalším deklarovaným cílem je „zjistit, jestli se výsledky procedury a prognóza pacientů po ASA s pozitivním genotypem (G+) liší od pacientů po ASA s negativním genotypem (G-).“

V této oblasti oceňuji formulaci základní hypotézy, ze které byly odvozeny jednotlivé cíle práce. Doporučoval bych věnovat pozornost přesnější a strukturovanější formulaci jednotlivých cílů práce. Jsou zvoleny dobře, avšak takto zanikají v relativně větším množství vysvětlujícího textu.

Ve třetí části se autor věnuje metodám. V první části se věnuje souboru pacientů, stanovení diagnózy, sběru demografických, klinických a echokardiografických dat, sledování pacientů v čase. Problematice provedení alkoholové septální ablace. Ve druhé části se věnuje problematice genetického vyšetření: charakteristice diagnostických kitů, panelů genů a problematice sekvenování nové generace. Ve třetí části se věnuje statistickým metodám. Při hodnocení této oblasti je nutné zdůraznit především

velikost souboru (336 nepříbuzných pacientů s klinickou dg. HCM) a široké spektrum sledovaných genů (229 genů asociovaných s kardiovaskulárními onemocněními).

Ve čtvrté části se disertant věnuje výsledkům své práce: uvádí základní charakteristiky souboru pacientů, dále se věnuje výsledkům genetického vyšetření (podává přehled nalezených variant v genech podle četnosti výskytu, kompletní seznam všech nalezených významných variant ve všech genech, kompletní seznam všech vyšetřovaných genů, dále kompletní seznamy složených heterozygotů a pacientů s komplexním genotypem ve vztahu ke klasifikaci ACMG, distribucí variant). V další části výsledků autor předkládá analýzu porovnání klinických a morfologických charakteristik ve vztahu k pozitivnímu genotypu. V přehledu jsou uvedeny některé charakteristiky demografické (věk, ženské pohlaví, rodinná anamnéza HCM, náhlé smrti a anamnéza hypertenze) a morfologické (maximální tl. myokardu levé komory, tvar septa, přítomnost obstrukce a její gradient). V této oblasti by bylo možné zvážit podrobnější analýzu i širšího klinických i morfologických dat (medikaci, rizikové faktory pro ostatní onemocnění, diabetes mellitus, přítomnost SAMu, masu levé komory podle MR srdce, přítomnost poruchy diastolické funkce a jejího typu).

Za samostatnou kapitolu vhodnou pro další výzkum či podrobnější analýzu již shromážděných dat považují přítomnost arytmií u nemocných s HCM ve vazbě na genetickou pozitivitu.

Za cenné lze v disertační práci považovat hodnocení predikce výsledku genetického vyšetření v závislosti na hodnotě Mayo Score (tab. 15), které zahrnuje P/LP varianty, ale také analýzu souhrnu P/LP a VUS genetických nálezů.

Výsledky studie doplňuje ukázka kaskádovitěho genetického vyšetření příbuzných jedné pacientky a analýza vlivu genotypu na výsledky alkoholové septální ablace.

V části diskuze se disertant věnuje těmto oblastem: molekulárně genetický podklad pacientů s HCM v České republice (porovnává své výsledky s výsledky zahraničních prací a s českou studií dr. Čurily). Vysvětluje rozdíly mezi studiemi. V dalších částech se věnuje klinickým a morfologickým charakteristikám v souvislosti s pozitivním genotypem, predikci výsledku molekulárně genetického vyšetření, problematice kaskádovitěho genetického vyšetření a vlivu genotypu na výsledky alkoholové septální ablace. V této části komentuje své výsledky s výsledky jiných studií, podává racionální analýzu možných rozdílů. Objektivně si všímá také limitací své práce.

V závěru práce sumarizuje své výsledky.

Drobné formální nedostatky: sjednocení psaní velkých a malých počátečních písmen v jednotlivých buňkách tabulek, sjednocení transkripce anglosaských názvů (tab. 2: actin vs. aktinin apod.).

Souhrn:

Z výše uvedeného vyplývá, že:

- předložená disertační práce je velmi aktuální. Věnuje se problematice moderních metod sekvenování nové generace (NGS) v průkazu přítomnosti genů a jejich mutací u nemocných s hypertrofickou kardiomyopatií. Aktuálnost práce spočívá v analýze širokého spektra 229 genů asociovaných s kardiovaskulárními onemocněním testovaných v relativně rozsáhlém souboru 336 dospělých nepříbuzných pacientů s hypertrofickou kardiomyopatií, analýzou základních klinických a morfologických korelátů a dále analýzou alkoholové septální ablace a jejich klinických, morfologických a funkčních dat
- použité postupy a metody disertační práce jsou voleny racionálně a jejich volba odpovídá realizaci vytyčených cílů
- výsledky disertační práce jsou v mnohém prioritní a jejich publikace v odborných časopisech (některé s impakt faktorem) dokládají jejich vysokou úroveň, která snese srovnání se světovým písemnictvím. V některých ohledem patří mezi prioritní (analýza klinických, morfologických a funkčních parametrů u pacientů léčených alkoholovou septální ablací)
- výsledky práce poukazují na současné postavení genetického testování u pacientů s HCM (relativně nízká výtěžnost plošného testování širokého pole genů a jejich mutací asociovaných s fenotypem HCM), avšak významné místo při průkazu patologického genu/mutace u postiženého jedince. S ohledem na významnou velikost souboru a široké

spektrum sledovaných genů/mutací řadí provedenou studií k vysoce kvalitním a významným v dané oblasti

Otázky pro disertanta:

1. Lišil se výskyt arytmií (supraventrikulárních i komorových) v závislosti na některých typech genů/mutací? Jaké byly hodnoty skóre rizika pro náhlou smrt v daném souboru (dle doporučení Evropské kardiologické společnosti), byla zde závislost nebo asociace s některými genetickými nálezy?
2. Lišil se výskyt ostatních komorbidit, které mají vztah k onemocnění kardiovaskulárního systému, mezi nositeli P/PL genů a ostatními pacienty?

Závěr:

Předložená disertační práce MUDr. Jiřího Bonaventury splňuje nároky na disertační práci kladené příslušnými předpisy platnými na 2. LF UK, autor prokazuje, že má předpoklady k samostatné vědecké práci a po úspěšné obhajobě přiznání titulu Ph.D.

prof. MUDr. Radek Pudil, Ph.D.

1. interní kardiologická klinika LFUK a FN, Hradec Králové

V Hradci Králové, dne 30. prosince 2020.