

Posudek školitele před obhajobou disertační práce „Osteogeneze a kostní hojení u vrozeně krátkého femoru“ MUDr. Moniky Frydrychové, pracovnice dětského oddělení ortopedické kliniky 1. LF UK v Praze.

Dr Frydrychová se ve svém výzkumu, který byl i zdrojem materiálu pro disertační práci věnovala poměrně vzácné vrozené vadě-vrozeně krátkému femoru, který ve své komplexnosti postihuje kostěnné i měkké tkáně a má za následek typické, různě závažné deformity celé postižené dolní končetiny. Anatomická deficienze se v důsledku růstové poruchy prezentuje v široké škále variant, od poměrně nenápadného zkratu až po kompletní chybění stehenní kosti a kyčelního kloubu. Vždy však krom hlavního postižení jsou vývojovou nedostatečností, projevující se v typických anatomických odchylkách všech tkání, podílejících se na stavbě a funkci končetiny přítomny i další markanty jako výraz anatomických minus variant v oblasti kolenního kloubu, bérce, skeletu i měkkých tkání nohy. Co je příčinou těchto změn a jak jsou ovlivněny růstové schopnosti kostních struktur postižené dolní končetiny bylo i základní pohnutkou v nesnadném výzkumu této vrozené vady.

Cílem studie je možno rozlišit dva: 1. molekulární analýza patologické kostní tkáně u PFFD zaměřené na expresi angiogenních a osteogenních faktorů v porovnání s fyziologickou kostí. Očekávané byly rozdíly v genové expresi obou těchto faktorů, zejména v jejich množství. 2. retrospektivní analýza hojení vrozeně krátkého femoru s aspektem možných změn při tvorbě prolongačního regenerátu a s tím spojené komplikace. V úvahu byly brány faktory jako stáří pacientů, typ defektu a rp defektu a rychlost tvorby regenerátu v porovnání s kontrolní skupinou.

Metodika.: z odebraného bločku kostní tkáně byla izolována RNA technikou RNeasy Mini Kit podle doporučeného protokolu a biočipovou metodou byl stanoven transskripční profil s možností exprese 113 genů osteogeneze a stejného množství genů angiogeneze, umožněné laboratorní technikou SuperArray Bioscience corp. Analyzováno bylo celkem 10 vzorků, z toho 7 s flagrantním syndromem PFFD skupin postižení Pappas III, IV, VII, VIII a IX, kontrolní vzorky byly získány se zdravých jedinců, operovaných pro jiné diagnózy.

Výsledky nejsou zdánlivě překvapivé-byly zaznamenány rozdíly v genové expresi u pacientů s pakloubem proximálního femoru (typ Pappas III a IV) proti kontrolním vzorkům, a to u genů angiogeneze. Některé geny byly více exprimovány, z celé řady uvádím gen pro kalcitoninový receptor nebo kolagen XII, jiné geny naopak vykazovaly expresi nižší-jkako např gen pro annexin A5, kolagen typů I a XVIII. V klinické části nebyly prokázány souvislosti mezi hojením po prolongaci a typem postižení femoru, rovněž věk nebyl průkazně rozdílný. Statisticky významný rozdíl byl zjištěn u healing indexu(HI) mezi první a druhou prolongací. V závěru práce se konstatuje, že hypotéza o rozdílné genové expresi byla potvrzena, výsledky však nelze zobecňovat. Závislost kostního hojení na závažnosti vrozené vady potvrzena nebyla, zato významný rozdíl byl zjištěn při druhém opakování prolongace s odstupem kratším 7 let. Z toho plyne závěr pro klinickou praxi-pokud je indikována opakovaná prolongace postiženého femoru, je dobré respektovat interval delší než 7 let mezi operacemi.

Předložená disertace je výsledkem soustavné výzkumné práce laboratorní i klinické v časovém období 2012 až 2021. Kandidátka získala rozsáhlé množství informací o subtilních laboratorních technikách, které dokázala prakticky interpretovat v klinické práci. Závěry je možno akceptovat-očekávat převratný objev nebylo realistické. Za velmi cenné považuji shromáždění rozsáhlého klinického materiálu, ojedinelé i ve světovém měřítku s retrospektivní analýzou 92 pacientů s vrozeně krátkou stehenní kostí, označovanou jako syndrom PFFD-proximální femorální deficiencie. Na základě této práce a celkového profilu kandidátky doporučuji práci přijmout a umožnit získání titulu PhD.

Prof. MUDr. Pavel Dungal DrSc.