

Posudek na doktorskou disertační práci Mgr. Petra Vyleťala „Molekulární základy hereditární hyperurikemické nefropatie“

Petr Vyleťal se ve své práci zaměřil na poznání podstaty vzácných onemocnění, familiární juvenilní hyperurikemické nefropatie a medulárního cystického onemocnění ledvin I a II typu o nichž je známo, že se jedná o geneticky heterogenní skupinu onemocnění, které jsou děděny autozomálně dominantně a vykazují určité fenotypové podobnosti, tedy hyperurikemii, dnovou artritidu a progresivní nefropatii. Bylo prokázáno, že pojitkem mezi těmito chorobami je mutace genu pro uromodulin (Tamm-Horsfallův protein), ze kterých jsou nejčastěji tvořeny močové válce. Bližší poznání podstaty těchto vzácných hereditárních intersticiálních nefritid přinesl až recentní výzkum, na kterém se podíleli také pracovníci Centra aplikované genomiky, včetně autora disertační práce.

Cílem disertace bylo přispět k pochopení podstaty uvedených chorob. K tomu potřebovali autoři shromáždit soubor rodin s výskytem onemocnění FJHM/MCKD a metodou pozičního klonování pak nalézt mutace v genech odpovědných za vznik onemocnění, následně pak identifikovat proteiny a jejich změněné formy a také přispět k pochopení patogeneze těchto chorob popsáním dalších partnerů takto změněných proteinů.

Uvedené výsledky shrnují poznatky z 6 prací, z nichž 2 zatím publikovány nebyly. Autoři shromážдили celkem 31 rodin s FJHM/MCKD. Z 15 rodin s FJHN, potvrdili vazbu na lokus 11.2 z 16p chromozomu jenom u 6 z nich, což svědčí proto, že nemoc je také vázána na další místa. Autoři však neprokázali patologické mutace v 7 vybraných kandidátních genech. Mezitím byla publikována práce jiných autorů, která prokázala mutace v genu pro uromodulin jak u FJHN tak i u MCKD. U 19 rodin s FJHN/MCKD pak autoři sekvenovali gen pro uromodulin, charakterizovali změněný protein a provedli imunohistochemické a elektrooptické vyšetření z renální tkáně. Vyšetřením potvrdili genetickou heterogenitu onemocnění. Mutace v genu pro uromodulin byly nalezeny u 6 rodin, u všech rodin byla popsána snížená exkrece uromodulinu. Dále byly prokázány změny v močovém vylučování uromodulinu u 15 mužů s Fabryho chorobou, u neléčených dokonce uromodulin v moči nebyl téměř přítomen. Dále autoři identifikovali nový lokus pro komplex renálních onemocnění spojených s uromodulinem (FJHN/MCKD) na chromozomu 1q41. Zjistili pak, že heterozygotní mutace v této oblasti vede k poškození syntézy reninu buňkami juxtaglomerulárního aparátu. To v konečném důsledku může vést k ischemizaci nefronu a intersticiálnímu poškození. Autoři dále získali důkazy o tom, že poškození biologie uromodulinu, který se projevuje jeho sníženou sekrecí, je typický pro jinak geneticky heterogenní komplex onemocnění.

Praktickým výstupem této rozsáhlé práce je zavedení řady molekulárně-biologických a biochemických metod pro vyšetření proteinů uromodulinu a reninu. Zavedení metody western blot pro močový uromodulin umožňuje vyšetřit nemocné s nejasnou hyperurikemií. Takto byly identifikovány nové rodiny s FJHN/MCKD v ČR i v zahraničí. Pracoviště Centra aplikované genomiky tak v současnosti nabízí komplexní laboratorní zázemí pro detekci těchto vzácných chorob.

Po formální stránce bych rád vyzvedl, že práce je napsána v anglickém jazyce. Má celkem 127 stran a 244 citací svědčí o velkém přehledu autora práce v dané problematice. Úvod je stručný na 6 stranách, následuje popis výsledků 6 prací, které jsou i jednotlivě komentovány. Závěry práce jsou stručné a jasné a je také uvedena možná aplikace výsledků v praxi. Dle mého názoru jsou zbytečně rozsáhle uvedeny použité metody, ty by mohl zájemce nalézt v publikovaných člancích. Velmi málo prostoru je na druhé straně věnováno popisům osudů rodin a jednotlivých nemocných s UAKD.

Dále jsou v práci uvedeny použité metody, seznam použitých chemikálií a přístrojů (tuto část považuji za nadbytečnou), seznam zkratk, literatura. Autor dále uvádí seznam svých prezentací a publikací. 4 práce, které se týkající se projektu byly publikovány v časopisech s IF, z nich ve dvou byl autor prvním autorem (Kidney Int, J Inherit Metabol Dis). Mgr. Vyleťal je dále prvním autorem práce v časopise Human Mutations. Lze tedy uzavřít, že práce autora jsou publikovány v časopisech s vysokým IF.

K práci mám tyto otázky:

- 1) Jaké byly indikace k provedení renální biopsie nutné k získání materiálu, byly-li projevy nemoci typické pro intersticiální nefritidu?
- 2) Jaké byly močové nálezy, proteinurie a úroveň renální funkce u nemocných, kteří byli diagnostikováni s UKD?
- 3) Byl pozorován rozdíl ve vylučování uromodulinu mezi nemocnými s renální dysfunkcí nebo dokonce selháním a těmi rodinnými příslušníky, kteří byli nosiči mutantních alel ale měli ještě normální renální funkce?

Předkládaná práce svým obsahem a výsledky značně převyšuje nároky kladené na doktorské disertační práce. Domnívám se, že disertační práce Mgr. Petra Vyleťala „Molekulární základy hereditární hyperurikemické nefropatie“ jednoznačně prokazuje schopnost autora samostatně vědecky pracovat a je předpokladem pro udělení titulu „Ph.D.“ za jménem.

V Praze 7.3.2009



Prof. MUDr. Ondřej Viklický, CSc.