



Department of Pediatrics
Charles University, 1st Faculty of Medicine

Ke Karlovu 2, 128 08 Prague 2, Czech Republic
Tel./ Fax: + 420 224 910 478

Oponentský posudek

Analýza genů *SH3TC2* a *LMNA* a klinická studie u českých pacientů a rodin s autozomálně recesivními typy dědičné neuropatie Charcot-Marie-Tooth typ 1 a 2

Disertační práce
Doktorský studijní program „Neurovědy“

MUDr. Petra Laššuthová
Klinika dětské neurologie, DNA laboratoř,
2. lékařská fakulta UK v Praze

Školitel: Prof. MUDr. Pavel Seeman, PhD
Klinika dětské neurologie, DNA laboratoř, 2. lékařská fakulta UK a FNM
V Úvalu 84, 150 06 Praha 5

Téma disertační práce

Disertační práce MUDr. Petry Laššuthové se zabývá problematiku spojenou s molekulární diagnostikou neuropatií Charcot-Marie-Tooth (CMT), které reprezentují heterogenní skupinu poměrně častých dědičných neuropatií, představujících významný zdravotnický a sociální problém. Jednoznačné potvrzení diagnózy je velmi důležité pro nasměrování léčebného ovlivnění onemocnění. Autosomálně dominantně děděné neuropatie CMT byly předmětem PhD disertace MUDr. Vyhnákové. Autosomálně recesivně děděné formy onemocnění mohou mít rychlý a závažný průběh. Předkládaná disertační práce se zabývá analýzou genu *SH3TC2* (mutace tohoto genu odpovídají za CMT4C – demyelinizační autozomálně recesivně děděnou formu CMT) a genu *LMNA* (mutace tohoto genu odpovídají za CMT2B1 – axonální autozomálně recesivně děděnou formu CMT) a pokrývá tuto důležitou oblast na úrovni studia molekulární patologie a klinických příznaků. Doktorandka se částečně zúčastnila tvorby a měla přístup k DNA bance nemocných s dědičnými neuropatiemi, která obsahuje vzorky více než 1200 rodin (DNA banka nebývalých rozměrů) a kontrolní DNA banky s více než 200 vzorky. Řešení předkládané problematiky vyžadovalo velkou píli, systematickosti a vytrvalost doktorandky, kvalitní zázemí laboratoře i kliniky a návaznost na pečlivé pozorování školitele a členů Kliniky dětské neurologie 2. LF UK a FNM.

Zpracování práce

Po stránce obsahové i formální má předložená disertační práce MUDr. Petry Laššuthové vynikající úroveň. Práce je přehledná a velmi dobře dokumentovaná. Celkový rozsah předkládané práce je 133 stran, 113 stran představuje vlastní text doktorské disertace, dalších 20 stran jsou přílohy tří publikovaných prací, které tvoří vlastní jádro disertace. Disertace je psána dobrou češtinou, literární odkazy čítají 126 položek. Práce obsahuje 12 tabulek a 33 obrázků, které velmi vhodně doplňují text.

Disertace MUDr. Petry Laššuthové je věnovaná neurogenetice autosomálně recesivně děděných forem CMT – typ 1 a typ 2 (rozdíly mezi oběma formami jsou autorkou jasně definovány). Studovala kausální úlohu mutací dvou genů, *SH3TC2* (SH3 domain and tetratricopeptide repeats 2) a genu *LMNA* (lamin A/C). Sledované soubory byly velmi dobře charakterizovány a výsledky kriticky zhodnoceny a diskutovány. Deset stanovených cílů práce bylo beze zbytku splněno.

Autorka obohatila molekulární diagnostiku choroby CMT zavedením přímého sekvenování genů *SH3TC2* a *LMNA*, pro první z nich zavedla a ověřila pro nejčastější mutaci genotypování pomocí vysokokapacitní, nenákladné metody TaqMan SNP genotyping assay (touto metodou vyšetřila 412 nemocných). Studovala výskyt mutací v těchto genech a klinické projevy onemocnění. Doktorandka postupovala velmi systematicky a cíleně. Nález dříve popsané mutace p.Arg954Stop v genu *SH3TC2*, která byla nalezena v 63% studovaných alel 60 nemocných vedl k zavedení do rutinní praxe a bude součástí diagnostického manuálu u nemocných s demyelinizačním typem dědičné periferní neuropatie v České republice. Nespokojila se např. při nálezu devíti dosud nepopsaných mutací v genu *SH3TC2* s jejich pouhým popisem, ale použila moderní přístupy analýzy mutací *in silico*.

Výsledky studie byly dosud publikovány ve třech sděleních v důležitých časopisech oboru s IF, ve všech třech sděleních je první autorkou. Celkový IF časopisů, ve kterých byla tato tři sdělení publikována, je 7,348. Každé prezentované sdělení je osobitým přínosem s významnou reflexí do klinické praxe. Aktuálnost řešené problematiky podtrhuje i skutečnost, že problematika byla řešena i v rámci několika grantových projektů.

Komentář:

Protože tato PhD studie vyústila do tří publikací, které byly otištěny v mezinárodních časopisech, kde byly podrobeny důkladné recenzi, uzavírám proto, že nemám žádné podstatné otázky k textu předložené disertace. Navrhuji proto, aby v rámci obhajoby byly spíše diskutovány obecnější aspekty řešené problematiky:

a) Popisujete, že při analýze kontrolní DNA jste analyzovala 246 vzorků, jednalo se tedy o vyšetření 492 alel? Jakým způsobem jste získali tyto kontroly?

b) V dnes už klasické práci Bonneho a spol (Ann Neurol 2000, 48, 170-180) popisuje výskyt *de novo* mutací v 76%. U vámi popsaného nemocného s mutací v *LMNA* genu se jednalo také o mutaci *de novo*. Je známo z literatury nebo je možné se vyjádřit na základě vašich studií jaké je procento *de novo* mutací v genu *SH3TC2*?

Závěr:

Disertační práce MUDr. Petry Laššuthové přináší originální poznatky v českém i evropském kontextu s jednoznačnou molekulárně-diagnostickou i terapeutickou aplikací.

V předložené disertační práci MUDr. Petra Laššuthová prokázala předpoklad k samostatné tvořivé vědecké práci. Doporučuji oborové radě doktorského studijního programu „Neurovědy“ práci přijmout v předložené formě jako podklad pro udělení titulu „PhD“ za jménem.

Prof. MUDr. Pavel Martásek, DrSc, FCMA
Klinika dětského a dorostového lékařství
1. lékařská fakulta Univerzity Karlovy v Praze

V Praze dne 20. května 2011