

Oponentský posudek doktorandské disertační práce MUDr. Hany Šafránkové

„Genetický podklad vybraných chronických nefropatií“

(školitel: prof. MUDr. Miroslav Merta, CSc., školitel konzultant doc.MUDR. Jana Reiterová, PhD.)

Doktorská disertační práce MUDr. Hany Šafránkové má 69 stran textu (včetně literatury, obrázků a tabulek) a 5 příloh in extenso publikací. Součástí je i výstižný abstrakt v české a anglickém jazyce. V úvodní části autorka rozebírá základní principy fyziologie a patofyziologie funkce ledvin především s ohledem na molekulárně genetické změny podocytů. Dále podrobně rozebírá mechanismy a současné názory na vznik otoků při nefrotickém syndromu. Jsou popsány geny, jejichž mutace by mohly být zodpovědné za vznik a rozvoj nefrotického syndromu na podkladě nemoci malých změn (minimal change disease – MCD), fokálně segmentální glomerulosklerózy (FSGS) a IgA nefropatie.

Cílem studie bylo zavedení mutační analýzy NPHS2 genů a snaha pokusit se tak přispět k objasnění genetického podkladu nejčastějších dědičných forem nefrotického syndromu (NS) v České republice u dospělých pacientů. Dalším cílem bylo stanovení /vyloučení vlivu některých polymorfismů NPHS2 a VEGF uplatňujících se v patogenezi NS na průběh vybraných glomerulonefritid (fokálně segmentální glomeruloskleróza-FSGS, nemoc malých změn-MCD, membranozní glomerulonefritida-MGN a IgA nefropatie). Studie vyšla z registru renálních biopsií provedených na Klinice nefrologie I.LF UK v letech 2004 až 2008. Pro stanovení genů NPHS2 byla vyšetřena DNA u 71 pacientů s dg FSGS či MCD, u 169 pacientů s dg. IgA nefropatie, u 46 s diagnózou MGN a u kontrolního souboru 300 dobrovolníků (dárce krve). Vyšetření polymorfismu genů VEGF pak bylo provedeno u 213 pacientů s chronickou glomerulonefritidou a diagnózou MCD či FSGS, u 44 s dg MGN a 311 kontrol.

U pacientů s FSGS/MCD byla jednoznačně patogenní mutace nalezena pouze u jedné pacientky. Jedná se o homozygotní NPHS2 mutaci c.G868A (p.V290M) v 7.exonu, která způsobuje záměnu aminokyseliny valinu (GTG) za metionin (ATG) v cytoplasmatické oblasti podocinu. Tato mutace byla popsána jako příčina FSGS, ale v heterozygotním stavu. Dále byla nalezena nová ještě nepopsaná záměna c.G291A ve 2.exonu vedoucí k substituci glycinu (GGC) za serin (AGC), o které se však předpokládá, že nejde o kauzální mutaci. Při analýze genu NPHS2 u pacientů s FSGS/MCD byly nalezeny 2 polymorfismy, které byly následně vyšetřeny i u ostatních skupin pacientů: polymorfismus p.P20L byl nalezen u 3 pacientů s kortikoid-rezistentním NS a dále u 3 pacientů s IgA negativním průběhem onemocnění, zatímco u stabilních forem přítomen nebyl. Polymorfismus VEGF -2578 (C/A) byl nalezen s vyšší prevalencí genotypu CC u pacientů s MCD/FSGS. Při korelaci s laboratorními nálezy byl u pacientů s MCD/FSGS signifikantní rozdíl u glomerulární filtrace u pacientů s alelou CC vůči alelám AA a AC ve prospěch A alely. Pro polymorfismus -1154 (G/A) s rovnoměrnou distribucí G a A alel byl nalezen hraniční rozdíl mezi GG homozygoty versus alely AA a AG v hladině sérového kreatininu v době diagnózy.

V závěru autorka konstatuje, že zavedení mutační analýzy NPHS2 genů by se mohlo stát součástí rutinní diagnostiky u indikovaných pacientů. Zjištěné mutace a polymorfismy byly již dříve potvrzeny v publikovaných studiích. U pacientů s FSGS/MCD v dospělém věku nebyla nalezena žádná kauzální mutace genu NPHS2. Lze tedy předpokládat, že tyto mutace nejsou častou příčinou FSGS/MCD v naší populaci. Pacienti s mutacemi genu NPHS2 byli většinou kortikoid-rezistentní včetně neúplné odpovědi na další imunosupresi.

Z hlediska formálního je doktorandská disertační práce MUDr. Hany Šafránkové psána přehledně s velmi dobrou úpravou. Statistické hodnocení je relevantní, uvedené grafy, tabulky i obrázky jsou též přehledné a instruktivní. Přehledová literatura má 116 relevantních citací s uvedením impaktované publikace autorky (je první spoluautorkou).


Z hlediska klinické praxe mám následující otázky:

1. Na vznik onemocnění ledvin mají vedle genetické determinance vliv i faktory epigenetické. Nakolik se mohou uplatňovat a jakou mají váhu genetické a epigenetické faktory ?
2. Nález jednoznačně patogenní mutace byl v uvedené studii vzácný a ne vždy se jednalo o kauzální mutaci. U kterých pacientů by byl genetický screening přínosný s ohledem na cenu vyšetření v ČR (uveden holandský model) ?
3. V čem by mohla být odlišná rekurence FSGS v transplantované ledvině, která vznikne při plné imunosupresi. Lze vysvětlit z genetického hlediska např. vznik IgA nefropatie de novo v transplantované ledvině při dlouhodobé imunosupresi ?

Závěr: Disertační práce MUDr. Hany Šafránkové je originální, prokazuje praktické i teoretické znalosti doktorandky a je doložena in extenso pěti impaktovanými publikacemi, které jsou podkladem disertace. Jsou doloženy i čtyři další publikace s IF bez přímého vztahu k tématu disertace.

Doporučuji proto předloženou práci v uvedené podobě k obhajobě a získání titulu PhD za jménem.

V Praze dne 5.9.2013


Prof MUDr. Vladimír Teplan, DrSc.