Oponentský posudek

Název práce: Mutační screening u familiárních kardiovaskulárních onemocnění

Autor: RNDr. Pavel Čapek

Pracoviště: Přírodovědecká fakulta UK v Praze

Školitel: Prof. MUDr. Radim Brdička, DrSc.

Zajímavá práce, týkající se problematiky genetického vyšetření pacientů s hypertrofickou kardiomyopatií (HKMP) a následného vytvoření lidského 3D modelu ´mutovaného´ těžkého řetězce beta-myosinu. Dále se autor zabývá analýzou struktury a funkce mutací zasaženého fragmentu polypeptidové části molekuly beta-myosinu a jejího srovnání s polypeptidem ´zdravým´. Poslední část práce se zabývá zhodnocením efektu rosiglitazonu na expresi trombogenních markerů u pacientů trpících diabetem mellitem 2. typu.

Celkový rozsah práce je 37 stran + 5 prací publikovaných v časopisech. Z těchto publikací se jedná o 3 původní práce, 1 review a jednu citaci z časopisu v souvislosti s uveřejněním nalezené mutace. Z 3 původních sdělení jsou všechny v časopisech s impakt faktorem nad 1 (dvakrát jako hlavní autor). Formální úprava práce je až na chybějící legendu k obrázkům dobrá.

Téma práce je aktuální, neboť genetické vyšetřování HKMP je problematika, která se dostala do povědomí odborné veřejnosti v posledních několika letech. Autor se zaměřil na genetické vyšetření nejčasteji postižených exonů v genech pro těžký řetězec beta-myosinu (MYH7) a troponinu T. Při tomto vyšetření byly nalezeny pouze 3 mutace ve velké skupině cca 180 pacientů s HKMP (jednou troponin T, dvakrát MYH7).

Nejzajímavější část práce představuje tvorba 3D modelu struktury molekuly beta-myosinu a jejích polypeptidových částí, spolu s funkční analýzou. Cílem modelování struktury a funkce postiženého proteinu/polypeptidu je odhalit potenciální ´fatální´ následky přítomnosti mutované aminokyseliny v struktuře bílkoviny. Zajímavé je, že i když autor vytvořil model struktury bílkoviny s mutovanou aminokyselinou, která má jiný náboj než aminokyselina původní (očekávala se zásadní změna ´vzhledu´ bílkoviny), nedošlo k žádné změně prostorové konformace bílkoviny ani testovaného zasaženého polypeptidu o zhruba 20 aminokyselinách. Velmi zajímavý je ale poznatek, že ´mutovaný´ polypeptid má proti původnímu pozměněné vlastnosti – je několikrát rigidnější. Tato funkční změna může mít dle autora zásadní význam pro funkci beta-myosinu a tutíž i celé sarkomery v myokardu postiženého jedince.

V poslední části doktorské práce autor prezentuje výsledky studie diabetických pacientů užívajících rosiglitazony, kde poukazuje na jejich efekt na snížení markerů protrombotických komplikací u diabetických pacientů. Tento nález dává do souvislosti s předpokládáným efektem na snížení hladin protrombotických markerů u pacientů s HKMP s následným zlepšením prognozy u těchto nemocných.

Na autora bych měl několik otázek:

- Jak získal autor tak rozsáhlý soubor nemocných s relativně vzácnou chorobou – HKMP? Autor uvádí, že pacienti jsou z různých části ČR, zařazení mezi rokem 2000-2003. Proč byli do testování zahrnuti i příbuzní pacientů s familiární HKMP, kteří neměli fenotyp HKMP?

- Zajímavé je i nízké procento nalezených mutací ve 2 vyšetřených exonech MYH7 (exon 21,22) – úspěšnost záchytu mutace pod 2%, když vyloučíme rodinné příslušníky bez projevů HKMP – jak si to autor vysvětluje, když víme, že v pracích jiných autorů ze zahraničí byl záchyt mutací v těchto exonech vysoký? (pozn: v našem souboru jsme také zaznamenali pouze 1% výskyt mutací v těchto 2 exonech).

- Jak dlouho se vytváří 3D model struktury bílkoviny beta-myosinu a jakou mají uvedené programy přesnost v predikci struktury molekuly bílkoviny?

- Jedním se závěrů práce je, že mutace, které mění náboj aminokyseliny, mají pravděpodobně větší vliv na funkci proteinu, než konzervativní mutace. Na základě čeho k tomuto výsledku autor dospěl, když zkoumaná mutace Asp778Val nijak zásadně neovlivnila strukturu bílkoviny a jestli neočekával větší změny v kvartérní struktuře bílkoviny?

- Proč je v diplomové práci o problematice genetiky a funkční analýzy u HKMP zahrnuta i problematika efektu rosiglitazonu na trombotické markery u diabetických pacientů?

- Není mi jasné, proč dávat do souvislosti efekt na snížení hladin protrombotických markerů u diabetu s HKMP (u druhého z nich mi nic není známo o příp.trombotických komplikacích).

Závěr: Práce RNDr.Čapka představuje nepochybně kvalitní příspěvek týkající se především problematiky genetického vyšetřování pacientů s hypertrofickou kardiomyopatií, následného vytvoření lidského 3D modelu ´mutovaného´ těžkého řetězce beta-myosinu a analýzy struktury a funkce mutací zasaženého fragmentu polypeptidové části molekuly beta-myosinu. Autor pracuje s velkým souborem nemocných vyšetřených exaktními metodami, jeho práce přináší řadu zajímavých výsledků. Prokazuje předpoklady k samostatné tvořivé vědecké práci, a proto doporučuji, aby po příslušné obhajobě mu byl udělen titul „PhD“.

V Praze dne 31.7.2012

Prof.MUDr.Pavel Gregor,DrSc.

3.Interní-kardiologická klinika 3.LF UK a FNKV v Praze