

OPONENTSKÝ POSUDEK DISERTAČNÍ PRÁCE :

Mgr.Marta Kopečková : Studium polymorfismů v kandidátních genech v populaci ADHD dětí.

V předložené disertační práci podává disertantka výsledek své studie polymorfismů v kandidátních genech v populaci ADHD dětí na celkem 71 stranách (včetně literatury), doplněných kopiemi publikovaných prací na toto téma.

Prezentace je jasně a přehledně strukturovaná, citace literárních pramenů obsahuje 159 položek, reflektujících vývoj studií této problematiky a vesměs recentní původ prací.

Studie je doplněna kvalitními grafickými ilustracemi a přehledně provedenými tabulkami.

Práci autorka zahajuje teoretickým úvodem, kde asi na dvaceti stranách představuje koncepci ADHD, jak se vyvinula a objasňovala od devadesátých let minulého století, jak z hlediska pokusů o standardizaci kritérií této poruchy, tak i z postupně poznávaného podrobnějšího popisu neurochemie transmitterových systémů a jejich možné účasti při vzniku ADHD, jež se pak staly a stávají cílem molekulárně genetických studií, zejména prostřednictvím využití DNA polymorfismů v úvahu přicházejících kandidátních genů.

Z tohoto teoretického základu pak autorka vychází a formuluje pracovní hypotézu. Konstatuje, že pro pochopení multifaktoriální etiologie ADHD a komorbidních poruch je třeba odhalit co největší počet genů, které se podílí na vzniku, vývoji a závažnosti onemocnění, při čemž je potřebné v těchto genech identifikovat funkční polymorfismy asociované s fenotypem a sledovat rozsah jejich působení na vznik a klinickou heterogenitu ADHD.

V souladu s výsledky jiných prací a současným výzkumným trendem v této oblasti pokládá za důležité studium jednotlivých transmitterových systémů a poznání vlivu genetického podkladu na jejich funkční změny, které by mohly v budoucnosti eventuálně ovlivnit volbu vhodného psychofarmaka při jejich léčbě.

Pro řešení projektu autorka sestavila skupinu 100 ADHD pacientů a skupinu 100 kontrolních jedinců, u kterých provedla molekulárně genetickou DNA analýzu polymorfismů ve vybraných genech. Určila

rizikové alely pro daný polymorfismus a rizikové kombinace alel a snažila se identifikovat polymorfismy, které mají nejvýraznější vliv na ADHD a které mají vliv spíše minoritní.

Autorka si stanovila pro úspěšné splnění vytčených cílů přesně popsané úkoly, jež v následující práci důsledně dodržela a v kapitole, věnované popisu materiálu a metodiky podrobně a přehledně popsala. V kapitole věnované diskusi se autorka svědomitě vyrovnává s metodickými obtížemi a problémy studie.

Shrnuje příčiny výběru vytipovaných kandidátních genů DRD2, DRD3, DAT1, DBH a 5-HTT v jejich souvislosti s biologickými procesy neurotransmitterových systémů, ovlivňujících hyperkinetický syndrom.

Probírá podrobně způsob výběru a sestavení skupiny pacientů i skupiny kontrolní se všemi opatřeními, které provedla jak na úrovni praktické, tak i teoretické k zajištění validity výsledných dat. Kvalitu analytické části ověřila testováním, zda jsou kontroly v Hardy-Weinbergově rovnováze

Z výpočtu O.R. dle alelického modelu vyšly signifikantní [$P < 0,05$] polymorfismy TaqI v DRD2 [$P = 3,735e - 18$; O.R. = 7,5], VNTR 20/23 bp v 5HTT [$P = 1,370e/06$; O.R. = 2,698], VNTR 40 bp v DAT1 [$P = 0,03084$; O.R. = 1,640], G444A v DBH [$P = 0,028$; O.R. = 1,556] a C1603T v DBH [$P = 0,00127$; O.R. = 8,027].

Po korekci na mnohočetné testování byl vyloučen polymorfismus G444A v DBH, a C1603T v DBH nesplnil podmínky power analýzy. Korekce na pohlaví nevyloučila žádný další polymorfismus.

Nosiči jedné nebo dvou rizikových alel dalších zkoumaných polymorfismů mají zvýšené riziko onemocnění v přítomnosti alely 10 v DAT1 1,6-krát, alely l v 5-HTT 2,7-krát a alely A1 v DRD2 – 7,5-krát.

U modelu recesivního, kdy předpokládaný rizikový genotyp je homozygotní stav, byly autorkou detekovány polymorfismy TaqI v DRD2, VNTR 20-23 bp v 5-HTT, VNTR 40 bp v DAT1, G444A v DBH, C-1021T v DBH a C1603T v DBH jako signifikantní.

Po korekci na mnohočetné testování však byly vyloučeny polymorfismy G444A v DBH, C-1021T v DBH a C1603T v DBH.

Riziko ADHD je signifikantně zvýšeno u homozygotů pro polymorfní alely v genech DRD2 (54krát),

5-HTT (6,7krát) a DAT1 (6,6krát).

Autorka uzavírá práci konstatováním, že studium jednotlivých transmitterových systémů zapojených do patogeneze ADHD a poznání vlivu genetického podkladu na jejich funkční změny může v budoucnosti pomoci při volbě vhodného psychofarmaka vzhledem k tomu, že v léčbě hyperkinetické poruchy se uplatňují látky s různým mechanismem účinku.

Ké studiu proto vybrala geny systému dopaminergního (DRD2, DRD3 a DAT1), noradrenergního (DBH) a serotoninergního (5-HTT) u nichž provedla molekulárně-genetickou analýzu 11 polymorfismů se základní strategií založenou na asociačním studiu „případ-kontrola“.

Přítomnost rizikových alel byla porovnána v souboru 100 dětí s ADHD a v kontrolní skupině 100 jedinců, u nichž byly příznaky ADHD vyloučeny testem Connersové.

Výsledky výzkumu disertantky svědčí pro asociaci genů DRD2, 5-HTT, DAT1 a DBH s ADHD.

Konkrétně po korekci výsledků na mnohočetné testování, korekci na pohlaví a po provedení power-analýzy, je riziko ADHD signifikantně zvýšeno u nosičů rizikové alely Taq1 A1 v genu DRD2 (7,5-krát), 1 alely v 5-HTT (2,7-krát) a alely 10 v DAT1 (1,6-krát).

Dále je riziko ADHD signifikantně zvýšeno u homozygotů pro výše uvedené alely v genech DRD2 (54-krát), 5-HTT (6,7-krát) a DAT1 (6,6-krát).

Riziko ADHD je též signifikantně zvýšeno u nosičů polymorfní alely DBH+444A, kteří jsou současně nosiči polymorfní alely DBH +1603T (14,9-krát).

Autorka práce vyvozuje ze svých nálezů další potvrzení genetických přístupů ve výzkumu ADHD, které v této problematice mají význam nejen teoretický, ale také praktický a otevírají možná perspektivu volby farmaka podle genetické etiologie, při čemž farmakologický přístup je v současnosti nejúčinnější formou léčby a jeho včasná aplikace brání rozvoji sekundárních poruch.

ZÁVĚR :

Disertantka Mgr.Kopečková předložila k obhajobě práci „ Studium polymorfismů v kandidátních genech v populaci ADHD dětí“.

Jako téma zvolila problematiku vysoce aktuální právě ve fázi, která násobí v oblasti psychiatrie zájem o ADHD jak pro relativní pokroky v klinickém vymezení této poruchy, lépe definované

moderními standardními kritérii než v nedávné minulosti, tak pro lákavou souvztažnost některých neurobiologických nálezů v oblasti neurotransmisních mechanismů a efektivitou používaných psychofarmakologických prostředků léčby těchto poruch.

Domnívám se, že kvalita formálního i metodického zpracování studie je nepochybná, pečlivá a rozmyšlená, krok za krokem vedoucí od znalosti teoretických předpokladů testovaných hypotéz až ke kritické interpretaci výsledků.

Práce je cenná zejména tím, že replikuje opět nález alely Taq1 A v DRD2 genu – i když to není nález nový, je nutné ho považovat v záplavě nereplikovatelných výsledků asociačních studií kandidátních genů v oblasti studie ADHD nebo jiných psychiatrických poruch.

Nové směry pak otevírá dalšími výsledky práce v oblasti méně zkoumaných nebo ještě nezkoumaných kandidátních genů.

Z hlediska metodiky mám dva dotazy – brněnská práce podobného zaměření se vyhnula problému pohlaví tím, že se zaměřila jak ve skupině pacientů, tak ve skupině kontrolní jen na chlapce. Autorka sice statisticky problém chlapců a dívek ošetřila, ale jaké důvody viděla v tom, že se tomuto problému nevyhnula zaměřením práce jen na chlapce.

Druhá otázka se týká věkové diskrepance zkoumaného a kontrolního souboru, kde dle věkového průměru v kontrolní skupině byla část jedinců dospělých (11 – 30 let). Je užití dotazníku Connorsové u dospělých ekvivalentní jeho užití u dětí ?

Význam práce, talentovaně plánované a svědomitě provedené, pro rozvoj oboru je nepochybný a práce prokazuje předpoklady autora k samostatné tvořivé práci a splňuje podmínky, předepsané zákonem, pro udělení titulu PhD. a proto doporučuji komisi přijetí její obhajoby.

V Praze, dne 28.8. 2007

Prof.MUDr.Petr Zvolský,DrSc.