

Oponentský posudek

na

dizertační práci

Genetika a fenotypová charakteristika

Parkinsonovy choroby s časným začátkem

Posuzovaná dizertační práce se zabývá neurogenetickými, klinickými a environmentálními aspekty Parkinsonovy choroby se zaměřením na pacienty postižené časným nástupem této závažné neurodegenerativní choroby.

MUDr. O. Fiala se problematice neurodegenerativních chorob, projevujících se mimo jiné i abnormálními pohyby a poruchami hybnosti, věnuje dlouhodobě a cílevědomě pod vedením svého školitele prof. MUDr. E. Růžičky, DrSc. na renomovaném klinickém pracovišti. Molekulárně biologická část studie byla provedena v přední genetické laboratoři pod vedením prof. MUDr. P. Martáska, DrSc..

Zvolené téma je důležité jak pro klinické neurovědní obory, tak i pro neurogeneticky zaměřený výzkum. Kandidát se věnoval studiu fenotypické charakteristiky českých pacientů s časným nástupem Parkinsonovy choroby (EOPD) a výskytu alelických variant parkinu u nemocných a zdravých jedinců. Dále zkoumal vliv možných rizikových či protektivních faktorů u pacientů, u nichž byla diagnostikována EOPD, vyznačující se řadou specifíků.

Práce, mající 105 stran a 2 přílohy, je členěna přehledně a přináší jak kvalitní přehled nejnovějších údajů, zaměřených zejména na neurogenetickou oblast, mající vztah k tématu disertační práce, tak výsledky, jež jsou pečlivě analyzovány a zasvěceně diskutovány.

Úvod, čítající 27 stran, je věnován stručnému vymezení Parkinsonovy nemoci nastupující obvykle v šestém či sedmém decenniu, především však relativně vzácné, nezřídka pozdě a ne vždy správně diagnostikované formě PN s časným nástupem onemocnění - EOPD, jejíž problematikou se kandidát zabývá.

Cíle posuzované práce i hypotézy byly zvoleny jasně jak v klinické části, zaměřené na fenotypovou charakteristiku jedinců s EOPD, tak v části laboratorní - neurogenetické, analyzující alelické varianty *parkinu*.

Zvolená metodika byla vybrána adekvátně cílům studie a testovaným hypotézám.

Klinická část studie spočívala ve vyšetření 70 pacientů s EOPD, kteří byli podrobně vyšetřeni standardními škálami (Hoehn-Jahr, MMSE, NMSS a UPDRS). 75 zdravých jedinců,

dobrovolných dárců krve, bylo vyšetřeno neurologem a byl vyplněn strukturovaný dotazník zaměřený na údaje p fenotypu, rodinné a environmentální anamnéze.

Genetická část studie je popsána přesně a výstižně - analýza genomové DNA byla prováděna metodu PCR, jíž byly amplifikovány exony genu *parkin*.

Statistické zpracování výsledků bylo provedeno standardními metodami – Chí-kvadrát test, Fisher exaktní test a nepárový t-test.

Získané výsledky klinické části studie umožnily podrobněji vymezit – v souladu s poznatky zahraničních autorů a s klinickou empirií – nejdůležitější fenotypové charakteristiky, jimiž se odlišují pacienti s EOPD od početnější skupiny pacientů s PN. Vliv environmentálních a rizikových faktorů byl prokázán v případě expozice chemikáliemi s častější vazbou na práci v zemědělství. Údaje získané u skupiny nemocných i zdravých osob nasvědčují protektivnímu účinku pití kávy a chybění protektivního účinku kouření, který bývá některými autory uváděn. Byla zamítnuta hypotéza o chybění vlivu environmentálních a rizikových faktorů.

Genetická část studie prokázala u 7,1% pacientů mutace *parkinu*, jednou se jednalo o bodovou mutaci a u čtyř jedinců šlo o exonové delece. U zdravých kontrol mutace prokázány nebyly. Výskyt polymorfismů p.S167N a p.D394N byl obdobný jak nemocných, tak zdravých jedinců. Zajímavý je nepochybně průkaz dvojnásobně častějšího výskytu polymorfismu p.V380L u jedinců z kontrolní skupiny. Byl prokázán významný rozdíl ve věku osob s EOPD u pacientů s mutacemi a bez mutace genu *parkin*, takže byla zamítnuta hypotéza o shodném fenotypu pacientů s mutacemi a bez mutací. Nebyla však zamítnuta hypotéza předpokládající shodnou prevalenci mutací genu *parkin* u osob s EOPD a zdravých jedinců. Kandidát se v diskusi věnuje významu zjištěných faktů, odpovídajících v oblasti studie fenotypu literárním údajům a zkušenostem jiných autorů. Nízkou frekvenci výskytu mutací genu *parkin* může podle kandidátova názoru objasnit působení zatím neurčených genů podmiňujících časný nástup projevů Parkinsonovy choroby, jejichž výskyt u slovanské populace kandidát předpokládá – na základě práce polských autorů.

Význam práce je podle názoru oponenta nepochybný. Kandidát získal původní poznatky rozšiřující znalosti o fenotypových a genetických charakteristikách českých pacientů s časným nástupem Parkinsonovy choroby a uvádí je do kontextu prací renomovaných odborníků věnujících se neurodegenerativním chorobám, poruchám funkce bazálních ganglií a neurogenetice.

Publikace již publikované nebo v recenzním řízení jsou kvalitní a byly přijaty uznávanými odbornými periodiky – celkový IF je 5,38 a IF dalších publikací je 12,24.

Oponent soudí, že **posuzovaná dizertační práce je kvalitní a potvrzuje předpoklady kandidáta k samostatné vědecké práci, a proto doporučuje udělit titul Ph.D..**

V Praze 27.8. 2014

Doc. M^{PhD}Dr. M. Bojar, CSc.

Oponent by rád znal odpovědi na následující otázky

- 1) Jsou k dispozici údaje o tom, jak velké % jedinců ze skupiny EOPD a z kontrolní skupiny žilo trvale ve městě a na venkově?
- 2) Byly při tvorbě kontrolní skupiny zjišťovány údaje o místu trvalého a předchozího bydliště zdravých osob, vykonávaném povolání a socioekonomickém statusu? Pokud ano, bylo by možno tyto údaje srovnat s údaji o skupině EOPD? Oponent si není jist tím, zda bez znalosti těchto vcelku triviálních údajů lze jednoznačně interpretovat údaje uvedené v tabulce č. 6. Rozdíly v % městské a venkovské populace mezi EONS a kontrolní skupinou by mohly ovlivnit závěry o vlivu protektivních a rizikových faktorů. Nebyly kladeny otázky týkající se konzumu jiných návykových látek – ethylalkohol, zolpidem?
- 3) Jak vysvětlit skutečnost, že v souboru pacientů s EOPD bylo 98,6% praváků? Jaký byl výskyt praváků a ambidextrů v kontrolní skupině? Jednalo se skutečně o pouhou náhodu? Kromě citované práce (Stochl et al.) jsou kandidátovi známa některá další sdělení? Oponent nemá na mysli pouhou otázku lateralizace prvních příznaků, již se kandidát věnoval dostatečně.
- 4) Oponent by rád znal kandidátův názor na možné příčiny relativně příznivého kognitivního profilu pacientů s EOPD. Je podmíněn pouze časnějším nástupem - oproti populaci pacientů s PN - spojeným s menším rozsahem neurodegenerativních změn, postihujících oblasti důležité pro kognitivní funkce? Byl pozorován vliv hluboké stimulace (DBS) u oněch 30% stimulovaných pacientů na kognitivní funkce oproti pacientům s EOPD léčeným dopaminergními látkami?
- 5) Nemůže být překvapivě nízká prevalence mutací genu *parkinu* podmíněna i jinými okolnostmi? Nezvažuje kandidát rozšíření počtu vyšetřených osob či pokus o multicentrickou studii – v rámci některé z příštích studií?

