

**LABORATOŘ PRO LIKVOROLOGII A NEUROIMUNOLOGII
EXPERTNÍ PRACOVÍŠTĚ SEKK PRO ČR A SLOVENSKO**

Topele*

s. s r.o., Nestátní zdravotnické zařízení

U Vojenské Nemocnice 1200, 162 00 Praha 6 - Střešovice

Přednosta pracoviště: Doc. MUDr. Pavel ADAM, CSc.

Primář – Jednatel: Prim. MUDr. Ondřej SOBEK, CSc.

Telefon: 220-612-349 Fax: 220-941-135 e-mail: likvor@likvor.cz

Vážená paní

Mgr. Eva Hrouzková

Děkanát Lékařské fakulty UP v Olomouci

Referát pro vědu a výzkum

Tř. Svobody 8

771 26 OLOMOUC

Praha 2. 12. 2011

Vážená paní magistro,

Dovoluji si Vám zaslat oponentský posudek na dizertační práci paní MUDr. Hany Přikrylové Vranové: Biologické a klinické markery poškození nervové soustavy u neurodegenerativních onemocnění - Analýza mozkomíšního moku, Dizertační práce v obou Neurologie.

Vlastní posudek:

Práce je velmi přehledně členěna na úvod, vyšetření likvorových markerů neurodegenerace u Parkinsonovy nemoci, diskuzi, závěr, souhrnnou část, přehled literatury, publikace s prací související, a to in extenso v impaktových časopisech, časopisech recenzovaných a publikovaná abstrakta a postery, dále přílohy.

Autorka podává precisní úvod do problematiky neurodegenerativních onemocnění, jejich etiopatogeneze a následně i jejich klasifikaci. Podrobně se zabývá Alzheimerovou demencí, tauopatiemi, progresivní supranukleární

paralýzou, kortikobazální degenerací, alfa-synukleinopatií, Parkinsonovou nemocí, multisystémovou atrofií, demencí s Lewyho tělísky a polyglutaminovými onemocněními.

U Parkinsonovy nemoci se podrobně zabývá etiopatogenezí, konkrétně mitochondriální dysfunkcí a narůstajícím oxidativním stresem, dále narušením proteinové degradace, agregací proteinů, Lewyho tělísky, zánětem a aktivací gliových buněk. Podrobně je rozebrána apoptóza a buněčná smrt. Je rozebrána neuropatologie onemocnění, jeho patofyziologie a klinický obraz, včetně základních a přídatných projevů a komplikací pozdního stadia, jsou uvedeny formy Parkinsonovy choroby. Je podán přehled diagnostiky onemocnění, včetně diferenciální diagnózy a jeho terapie, zahrnující farmakoterapii, neurochirurgickou léčbu Parkinsonovy choroby a rehabilitaci.

Je podán ucelený pohled na vyšetření mozkomíšního moku u neurodegenerativních onemocnění, jeho možnosti laboratorní i klinicky významné, jsou rozebrány proteiny asociované s Alzheimerovou demencí ve vztahu ke Parkinsonově chorobě.

Dále je uvedeno vlastní podrobné pozorování chování likvorových markerů neurodegenerace u Parkinsonovy choroby, a to ukazatele laboratorní, tedy v likvoru, dále míra motorického postižení a provedení vlastní korelační studie, bylo provedeno stanovení koncentrací tau proteinu a beta amyloidu 1-42 v likvoru u jednotlivých klinických subtypů Parkinsonovy choroby. Následuje podrobná a logická diskuze a závěr práce. Výsledkem vlastních pozorování jsou nová zjištění autorky, tyto výsledky a závěry byly autorkou publikovány v časopisech s impact factorem, dále ve pracích recenzovaných i dalších.

Práce je originální a přináší nové poznatky. Z důvodů výše uvedených dovoluji si požádat Váženou komisi, aby práci přijala v předložené formě a postoupila ji k veřejné obhajobě.

S úctou,

Pavel Adam,
Doc. MUDr. CSc.

Topele*

Topelex spol. s r.o.
Laboratoř pro likvorologii a neuroimunologii

IČ: 28207190, DIČ: CZ28207190
U Vojenské nemocnice 1200, 162 00 Praha 6
Tel: 220 612 349 Fax: 220 941 135
e-mail: likvor@likvor.cz

Doc. MUDr. Pavel ADAM, CSc.

Prof. MUDr. Petr Kaňovský, CSc.,

Předseda oborové rady

DPS Neurologie

Posudek disertační práce: MUDr. Hana Přikrylová Vranová: Analýza mozkomíšního moku u pacientů s Parkinsonovou nemocí

Předkládaná práce je z formálního hlediska velmi přehledně a dobře strukturována a zcela vyhovuje standardním požadavkům na disertační práci.

Úvod práce pojednává obecně o neurodegenerativních onemocněních s následným výčtem a stručnou charakteristikou jednotlivých onemocnění. Podrobněji je pojednáno o Parkinsonově nemoci a o vyšetření biomarkerů v likvoru. V následující části jsou vloženy všechny impaktované publikace se vztahem k tématu. Každá práce je navíc uvedena souhrnem v českém jazyce. Diskuse pro všechny práce je společná a v závěru jsou shrnuty hlavní výsledky vědecké práce.

Podkladem disertační práce je 6 publikací, z nichž na 3 publikacích je MUDr. Přikrylová Vranová první autorkou. Dvě práce jsou v České a Slovenské Neurologii a Neurochirurgii, ale zbývající práce jsou v kvalitních časopisech s IF 1.006, 1,630 a dokonce dvakrát v časopise s IF 2,597.

Jazyková a gramatická úroveň práce je vynikající s minimem překlepů. V celé práci jsem našel pouze 1 překlep – str. 72 skóra místo skóre.

Disertační práce řeší velmi aktuální téma neurodegenerativních onemocnění se zaměřením na Parkinsonovu chorobu a likvorologickou diagnostiku. Parkinsonova nemoc je jedno z nejčastějších neurodegenerativních onemocnění, které je možné klinicky diagnostikovat s velkou jistotou. Je proto vhodným modelem neurodegenerace, který oproti jiným neurodegenerativním onemocněním nepřináší diagnostické pochyby pro klinický výzkum biomarkerů. Díky spolehlivosti klinické diagnostiky a schopnosti určit různé podtypy onemocnění není nezbytně nutné ověření pitevními nálezy. Vlastní výzkum se týká vyšetření likvoru u pacientů s Parkinsonovou nemocí a korelace s délkou trvání onemocnění a tíží motorického deficitu. Následuje analýza likvoru u pacientů s Parkinsonovou nemocí, kteří jsou rozděleni do jednotlivých klinických subtypů. Dosud není přesně známo jaká je dynamika neurodegenerace u neurodegenerativních onemocnění a předkládaná práce si klade za cíl posoudit přínos vyšetření biomarkerů v likvoru pro posouzení kvantity postižení (intenzity neurodegenerace) i kvality postižení (diferenciální diagnostika jiných onemocnění). Cíle práce jsou podrobně diskutovány a splněny a jejím závěrem je zejména zhodnocení přínosnosti vyšetření hladiny tau proteinu v likvoru.

Práce má velký význam pro další rozvoj neurověd, neboť umožňuje blíže porozumět procesu neurodegenerace. Významné je zejména zjištění že zvýšená hladina tau proteinu je zvýšená v počátku onemocnění, kdy se neurodegenerativní proces rozvíjí zřejmě bez dostatečné opozice obranných mechanismů organismu. To podporuje i zjištění zvýšené hladiny clusterinu, který zřejmě reflektuje snahu o tyto obranné a vyvažující procesy v mozku. Právě touto úvahou a srovnáním markerů neurodegenerace a clusterinu je disertační práce inovativní a posouvá hypotézy týkající se

neurodegenerace novým směrem. Dosud je publikováno jen málo prací korelujících hladiny markerů s bližšími klinickými parametry onemocnění (trvání nemoci, tíže postižení atd.) Předkládaná práce je tedy originální a inovativní.

K práci mám následující drobné výhrady:

1) Bylo by dobré rámcově zmínit ekonomickou problematiku:

a) existují nějaká data tom jak je ekonomicky náročná péče o pacienty s Parkinsonovou nemocí? Existuje nějaká úvaha jak by vyšetření likvoru mohlo ovlivnit stávající náklady na diagnostiku a léčbu Parkinsonovy nemoci?

b) jaká je orientační cena vyšetření biomarkerů v likvoru?

2) na straně 7 a 8 je výčet jednotlivých dějů, které se uplatňují v etiopatogenezi neurodegenerativních onemocnění. Není z něho však zcela zřejmé jaký je časový sled těchto dějů. Probíhají současně? Nebo například abnormální degradace proteinů nebo mitochondriální dysfunkce předchází apoptosu? Je možné blíže specifikovat?

3) které z proteinů detekovatelných u neurodegenerativních onemocnění (beta-amyloid, tau protein, synuklein, atd.) jsou uloženy intracelulárně a které extracelulárně?

4) str. 9. Alfa sekretasa štěpí APP nebo beta-amyloid?

5) V diagnostice Alzheimerovy choroby je v současnosti kladen důraz na časná stadia. Kriteriem pro stanovení syndromu demence bývá zejména zjištění nesoběstačnosti pacientů. Kapitola na str. 10 je nazvaná Alzheimerova demence. Jaký je vztah Alzheimerovy choroby, Alzheimerovy demence a Mírné kognitivní poruchy?

6) Praktické využití stanovení tau proteinu a beta-amyloidu v likvoru omezuje odlišnost normativních hodnot a cut off hodnot používaných v různých laboratořích. Jak si autorka vysvětluje skutečnost, že různé laboratoře mohou přinášet rozdílné výsledky? Je to dané kvalitou kontrolních souborů nebo například odlišnou procedurou zpracování vzorků (odběr, skladování, zamražení atd.)?

Závěrem se domnívám, že předkladatel práce MUDr. Hana Přikrylová Vranová jednoznačně splňuje předpoklady k samostatné tvořivé vědecké práci a doporučuji proto udělení titulu „Ph.D.“

V Praze dne 7.12.2011

Doc. MUDr. Jakub Hort, PhD.

Praha, 28.10.2011

Oponentský posudek na dizertační práci **MUDr. Hany Přikrylové Vránové**
(Neurologická klinika Lékařské fakulty, Univerzity Palackého v Olomouci)

na téma:

Analýza mozkomíšního moku u pacientů s Parkinsonovou nemocí

Disertační práce má celkově 101 stránek. Z toho se prvních 19 stránek zabývá problematikou obecných mechanismů neurodegenerativních chorob, dalších 20 stránek věnuje autorka klinické problematice Parkinsonovy nemoci (PN) od neuropatologie po terapii. Poté již po krátkém úvodu věnovanému významu vyšetření mozkomíšního moku u neurodegenerativních onemocnění se specifickým zřetelem k PN následují 3 autorčiny studie na toto téma. U všech 3 studií je předkladatelka první autorkou, všechny studie jsou publikovány v časopisech s IF a jejich kumulativní IF je 5,513. Autorka mimo těchto studií je spoluautorkou 3 dalších publikací publikovaných v časopisech s IF, ty však nejsou předmětem disertační práce. Následuje bohatá a recentní prostudovaná literatura a poté výčet veškerých autorčiných publikací in extenso.

1. studie se zabývá vztahy mezi laboratorními známkami neurodegenerace (tau protein, beta-amyloid a cystatin C) a tíží motorické symptomatiky u nemocných s PN a s délkou nemoci. Autorka prokázala vyšší hladinu tau proteinu u nemocných s PN oproti kontrolám, nebyla nalezena korelace s tíží motorického postižení. U nemocných v časně fázi nemoci byly nalezeny vyšší hladiny tau proteinu a indexu tau/beta amyloidu oproti nemocným s pokročilou PN. Autorka výsledky interpretuje následovně: tau protein reflektuje neurodegenerativní proces u PN a spekuluje o možnosti, že aktivita neurodegenerace je nejvyšší na počátku nemoci a nesouvisí přímo s progresí nemoci a s délkou nemoci.

2. studie navazuje na předchozí, byl rozšířen soubor a analyzován navíc další marker neurodegenerace-clusterin, který však reflektuje anti-apoptické mechanismy a nikoliv pro apoptotické, jak tau, beta-amyloid a cystatin. Výsledky byly v podstatě totožné s předchozí studií s tím, že hladiny clusterinu vykazovaly stejnou dynamiku změnu jako tau protein. Autorka to interpretuje obdobně, jako v minulé studii, tedy, že aktivita neurodegenerace je nejvyšší na počátku choroby a navíc ze zvýšených hladin clusterinu vyvozuje, že jsou zvýšeny i ochranné mechanismy před neurodegenerací.

3.studie analyzuje tau protein a beta amyloid u jednotlivých klinických subtypů PN (PN s počátek ve věku mladším než 55 let, tremor-dominantní a non-tremor dominantní formy PN, která začala po 55.roku věku) .Mimoto byly provedeny analýzy u kontrolního souboru a podskupiny pacientů s AN. Autorka prokázala, že u formy non-tremor dominantní byly nalezeny vyšší hladiny tau proteinu a indexu tau/beta amyloidu oproti dalším podskupinám. Analýza také prokázala minimální rozdíl mezi nálezy u non-tremor dominantní formy PN a Alzheimerovou nemocí.

Téma disertační práce je velmi aktuální, a to jak pro základní pochopení patofyziologických mechanismů, tak pro klinické aplikace.

Metody zpracování jsou adekvátní, využívající recentních výzkumných poznatků a umožňující dosáhnout předsevzatých cílů.

Formální úroveň: práce je rozčleněna velmi přehledně a text obsahuje řadu schémat a tabulek usnadňujících orientaci.

Stylistická úroveň: písemný projev autorky je vysoce odborný, přitom však plně srozumitelný.

Věcná úroveň: výzkumná práce autorky přináší především následující nová sdělení:

1. Tau protein pravděpodobně reflektuje obecný mechanismus neurodegenerace.
2. Dle výsledků studií se zdá, že aktivita neurodegenerace se zdá být nejvyšší na počátku PN.
3. Vyšetření markerů neurodegenerace může mít své klinické využití u PN, přispět k prognóze, predikci terapeutické odpovědi atd.
4. Non-tremor dominantní forma PN se po stránce likvorových nálezů markerů neurodegenerace neliší od pacientů s Alzheimerovou nemocí.

Závěr:

Disertační práce jednoznačně splnila předsevzaté cíle a předložené práce prokazují veškeré formální, metodické i věcné atributy kladené na výzkumnou práci.

Disertační práce plně splňuje veškerá kritéria kladená na získání titulu PhD.

Dotazy a náměty k diskusi:

K první studii:

1. jaké je teoretické opodstatnění studia tau proteinu u PN, jde primárně o synukleinopatii? Jak tau protein přispívá obecně k mechanismům neurodegenerace?

2. Je interpretace, že aktivita neurodegenerace je na počátku PN nejvyšší, podložena studii na zvířecích modelech, tkáňových kulturách atd. nebo jde jen o elegantní hypotézu autorky?

K třetí studii:

1. Prakticky identické nálezy u non-tremor dominantní formy PN a nemocných Alzheimerovou nemocí (oproti jiným formám PN) budí dalekosáhlé spekulace o společných patogenetických mechanismech – prosím o komentář. Nejde o artefakt? Byli vybráni „srovnatelní pacienti z obou skupin“, např. délkou nemocí? Dále by bylo zajímavé vědět, zda tento vztah platí především u tzv. PIGD formy PN (s dominantní posturální instabilitou a poruchou chůze). Tato podskupina má odlišnou prognózu než jiné formy PN a je charakteristická i vysokým podílem pacientů s demencí.
2. U nemocných s non-tremor dominantní formou PN byla nalezena korelace mezi tau proteinem a tíží motorické symptomatiky, což v obou předchozích studiích prokázáno nebylo. Prosím o komentář.

Doc. MUDr. Jan Roth, CSc.

Neurologická klinika 1.LFUK a VFN

Kateřinská 30

120 00 Praha 2

e-mail jan1roth2@gmail.com