



**Ústav biologie a lékařské genetiky 1. LF UK a VFN v Praze
Albertov 4, 128 00 Praha 2**

Oponentský posudok na dizertačnú prácu Mgr.Jany Paděrovej

**MOLEKULÁRNÍ SYNDROMOLOGIE: MOLEKULÁRNĚ GENETICKÉ PŘÍČINY
VZÁCNÝCH ONEMOCNĚNÍ NA PŘÍKLADU KABUKI A KABUKI-LIKE SYNDROMŮ**

Mgr. Jana Paděrová

Ústav biologie a lékařské genetiky, 2.lékařská fakulta, UK v Praze

Školitel: Prof. MUDr. Milan Macek ml., DrSc.

Predložená dizertačná práca Mgr. Jany Paděrovej bola vypracované v ÚBLG 2. LF UK a FN Motol. Je písaná v českom jazyku a je tvorená siedmymi kapitolami: Úvod, Ciele práce, Materiál a metódy, Výsledky a diskusia, Záver, Referencie. Práca je doplnená prílohou so zoznamom génov NGS kitu (Agilent) a zoznam génov NGS panelu pre Kabuki syndróm (Roche). Pred obsahom je vložené Prehlásenie autora, Identifikačný záznam, Poďakovanie a Zoznam použitých skratiek. Práca má bez príloh 114 strán, 8 obrázkov a 13 tabuliek.

Úvod je rozdelený na definíciu molekulárnej syndromológie a definíciu intelektovej nedostatočnosti (nahradil v praxi zaužívaný termín mentálna retardácia). Popisuje etiologickú heterogenitu intelektovej nedostatočnosti. Poskytuje stručný prehľad o genetických príčinách ID. Súčasťou úvodu je klinická charakteristika Kabuki syndrómu, molekulárne príčiny a diferenciálna diagnostika Kabuki syndrómu. V druhej časti úvodu sú uvedené ďalšie vybrané ochorenia asociované s ID s kauzálnymi s mutáciami vzácných génov HUWE1, EFTUD1, GRIN1 a KMT2A.

V závere úvodu poskytuje autorka podrobný prehľad použitých metód (DNA sekvenčná analýza podľa Sangera (tj. "sekvenovanie prvej generácie"), metóda MLPA, Metóda aCGH, metóda NGS (Sekvenovanie Novej Generácie).

Celý Úvod je spracovaný prehľadne. Široká problematika je v jednotlivých kapitolách priblížená stručne. Zároveň zrozumiteľne oboznámi čitateľa s problematikou vzácnych genetických ochorení, ktoré sú príčinou intelektovej nedostatočnosti a možnosťami molekulárnej diagnostiky ich odhaliť.

V kapitole **Ciele práce** si autorka stanovila tri hlavné body výskumu: A: zavedenie molekulárne genetického testovania Kabuki syndrómu, zistenie genotypového spektra mutácií génov KMT2 a KDM6A v českej populácii. Korelovať genotyp a fenotyp pacientov s KS a zhodnotenie využiteľnosti fenotypového „MLL-skóre“ (podľa Makrythanasis) určeného pre pacientov s KS.

B: Zistenie molekulárnej príčiny u pacientov s Kabuki-like fenotypom.

C: Využitie vyšetrenie pomocou NGS u ďalších pacientov so syndrómovou ID k detekcii ďalších génov.

V kapitole **Metódy a materiál** je popísaný súbor pacientov s Kabuki syndrómom (ďalej KS), s Kabuki-like fenotypom a vybraní pacienti s ID, laboratórne metódy, ktoré boli realizované na vlastnom pracovisku. Autorka je predovšetkým molekulárnym genetikom, z textu práce však možno vytušiť vábormú znalosť kliniky a úzku spoluprácu s klinickými genetikmi.

Výsledky a Diskusia sú sumarizované na dvadsiatich deviatich stranách. Sú rozdelené do troch celkov podľa stanovených cieľov. Odpovede na vymedzené otázky sú podávané formou stručného, ale výstižného komentára k jednotlivým cieľom. Sú doplnené prehľadnými tabuľkami patogénnych mutácií zistených u vyšetrených pacientov, tabuľkovo spracovanými fenotypovými prejavmi u pacientov s KS a Kabuki-like fenotypom. Oceňujem štatistické spracovanie najvýznamnejších klinických znakov pacientov s mutáciou KMT2D génu v porovnaní s fenotypovými znakmi KMT2D-negatívnymi pacientmi. Autorka odporúča algoritmus testovania u pacientov so skórom 6 a viac „MLL-skóre“ cielenou analýzou génov KMT2D/KDM6A. U pacientov so skóre 5 a nižšie testovanie v rozsahu CES. Cenným príspevkom sú nálezy iných vzácnych génov u pacientov s Kabuki-like syndrómom. U 33% pacientov s KS-like boli zistené v 2 prípadoch submikroskopické zmeny chromozómov, v 4 prípadoch kauzálne mutácie génov HUWE1, EFTUD2, GRIN1, KMT2A. V poslednej časti autorka uvádza skúsenosť z vyšetrenia klinického exomu pomocou NGS u pacientov so syndrómovou ID. Diagnostický výťažok metódy bol 25%, čo je v zrovnaní s celosvetovými publikovanými prácami veľmi dobrý záchyt. Výrazný rozdiel v záchytnosti kauzálnych génov závisí aj od toho, či je pacient vyšetrovaný sám alebo ide o tzv. trio (spoločne s rodičmi). V závere autorka zhrnula podstatné výsledky svojej práce. Najväčší prínos práce vidím v kľúčových publikáciách autorky, kde stanovila celkové spektrum mutácií v géne KMT2D v Českej populácii. Zistené mutácie boli nahlásené do celosvetových databáz. V ďalšej publikácii z roku 2018 uviedla skúsenosť s nálezmi kauzálnych génov v skupine Kabuki-like syndrómu s KMT2D, kde uvádza určitú podobnosť s Wiedemann-Steiner syndrómom. U pacienta s nedávno objaveným gén HUWE1 viazaným na X chromozóm ako prvá rozšírila fenotypové spektrum o nový symptóm- kraniostenózu.

Práce boli publikované v zahraničných odborných časopisoch s vysokým impakt faktorom.

Prehľad literatúry je dostačujúci, súčasný a je bez chýb.

Komentár:

K predloženej práci mám nasledujúce dotazy :

- U väčšiny pacientov s KMT2D negatívnych a s nálezom kauzálnych génov bolo MLL2 skóre vysoké (7,6,6,6). Máte na to nejaké vysvetlenie?
- V súvislosti s nedávno objaveným génom HUWE1 viazaným na chromozóm X je možné na základe Vašich skúseností a genomových databáz stanoviť približné diagnostické skóre pre chlapcov s ID?

Celkovo prácu Mgr. Jany Paděrovej je možno hodnotiť ako úspešnú. Prvú časť jej práce možno po úprave použiť ako stručnú príručku pre oboznámenie klinika s molekulárnou syndromológiou osobitne súčasných metód molekulárne- genetického vyšetrenia.

Výsledky práce odpovedajú na vytýčené otázky, boli publikované v zahraničných časopisoch s vysokým impakt faktorom a majú priamu klinickú aplikáciu v diagnostike genetických syndrómov u detí s ID. Práca rozsahom a kvalitou prevyšuje požiadavky kladené na dizertačnú prácu.

Doporučujem prácu prijať v predloženej forme ako podklad pre udelenie titulu „PhD“ za menom.

V Prahe, 2.září 2018

Doc. MUDr. Alice Baxová, CSc,
Ústav biologie a lékařské genetiky
1. lékařská fakulta University Karlovy v Praze