

Praha, 22.8.2018

Oponentský posudek na dizertační práci

RNDr. Anna Uhrová Mészárosová

(Univerzita Karlova, 2. lékařská fakulta, DNA laboratoř, Klinika dětské neurologie)

na téma:

Využití masivně paralelního sekvenování nové generace pro diagnostiku hereditární spastické paraparézy

Příspěvek k rozvoji DNA diagnostiky vysoce heterogenního onemocnění

Disertační práce má celkově 129 stránek. Z toho se prvních 12 stránek zabývá obecnou klinickou problematikou jednotlivých typů hereditárních spastických paraparéz (HSP). Dalších 12 stránek věnuje autorka genetice nejčastějších HSP. Následuje 15 stránek patofyziologických mechanismů u HSP a možnostech terapie.

Další oddíly disertační práce již přinášejí informace o vlastních výzkumných studiích, a to od cílů, podrobného rozboru metodik (především masivně paralelní sekvenování panelu HSP genů, celoexomové sekvenace atd.) a informacích o souboru pacientů. Rozsáhlá část práce uvádí získané výsledky, interpretuje a uvádí do souvislosti s tím, co je již známého na tomto výzkumném poli. Následuje bohatá a recentní prostudovaná literatura.

Téma disertační práce je významné a aktuální a má velký potenciál přinést unikátní informace a začlenit je do kontextu již známého.

Metody zpracování jsou vysoce sofistikované, zcela 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:

Do studií bylo zařazeno 96 pacientů s klinickým podezřením na HSP, což byli pouze ti pacienti, u nichž byla vyloučena jako příčina jejich obtíží HSP s mutací v genu SPAST (tedy SPG4 - jde o nejčastější typ HSP obecně v populaci).

Cílem autorky tedy bylo detekovat event. přítomnost vzácných typů HSP metodou masivně paralelního sekvenování. U 4 pacientů bylo provedeno navíc celoexomové sekvenování.

Těmito technikami byla nalezena diagnóza u 24 pacientů. Mezi 24 pacienty vyšetřenými non-SPG4 pacienty bylo nalezeno 10 typů HSP. V textu je následně věnována velká pozornost genotyp-fenotyp korelacím.

Získané informace jsou zcela prioritní a unikátní – na jejich základě je možné učinit si představu o spektru typů HSP u českých pacientů. Na základě získaných výsledků lze přispět ke světovým geneticko-epidemiologickým datům o HSP a určit specifickou českou distribuci. Takovýchto publikací je zatím v odborném písemnictví nedostatek.

Unikátní výsledky:

- nízký výskyt typu SPG3 v ČR, který byl uváděn ve světové literatuře jako druhý nejčastější.
- častější výskyt je v ČR: SPG31, SPG11 a SPG7.
- záchyt některých vzácných typů HSP: SPG35 (s zatím nepopsanou variantou v genu *FA2H*), SPG77 (ta byla popsána zatím pouze u několika pacientů na světě).
- nález dvou nových variant mutace v genu *ALS2* a několik nových variant v genu *REEP1* (SPG31) u 3 pacientů.

Na základě získaných vyšetření byl navržen diagnostický postup u pacientů se suspektní HSP – což významně přispívá k diferenciaci diagnostickým úvahám a autorka tak přispívá i do pokroku klinické praxe.

Závěr:

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

Disertační práce nejen plně splňuje, ale bohatě převyšuje veškerá kritéria kladená na získání titulu PhD.

Dotazy a náměty k diskusi:

1. Jaké jsou argumenty pro použití metody masivně paralelního sekvenování jako první metody v diagnostickém postupu oproti celoxomové sekvenaci? Jsou finančního nebo věcného rázu?

Prof. MUDr. Jan Roth, CSc.

Centrum extrapyramidových onemocnění, Neurologická klinika a Centrum klinických neurověd

1. lékařská fakulta, Univerzita Karlova a Všeobecná fakultní nemocnice v Praze

Kateřinská 30, 120 00 Praha 2, Česká Republika

tel.: +420 224965539, fax.: +420 224965078

e-mail: jan1roth2@gmail.com