



Oponentský posudek dizertační práce

„Využití masivně paralelního sekvenování nové generace pro diagnostiku hereditární spastické paraparézy: Příspěvek k rozvoji DNA diagnostiky vysoce heterogenního onemocnění“.

Autorka: RNDr. Anna Uhrová Mészárosová, DNA laboratoř, Klinika dětské neurologie, 2. lékařská fakulta, Univerzita Karlova

Studijní program: Molekulární a buněčná biologie, genetika a virologie

Školitel: prof. MUDr. Pavel Seeman, Ph.D.

Konzultantka: MUDr. Dana Šafka Brožková, Ph.D.

Oponent: Mgr. Mária Janíková, Ph.D., Ústav lékařské genetiky, Ústav klinické a molekulární patologie, Lékařská fakulta, Univerzita Palackého v Olomouci

Předkládaná dizertační práce na téma „Využití masivně paralelního sekvenování nové generace pro diagnostiku hereditární spastické paraparézy: Příspěvek k rozvoji DNA diagnostiky vysoce heterogenního onemocnění“ se zabývá problematikou hereditární spastické paraparézy (HSP), její heterogenní klinickou manifestací a klasifikací, na základě které jsou fenotypy rozdělené do různých typů HSP. V rámci této práce jsou pro objasnění příčiny HSP u analyzovaných pacientů použity molekulárně genetické metody umožňující identifikaci mutací v genech spojených s různými typy tohoto onemocnění.

Dizertační práce je psaná čtivě a konzistentně, téměř bez překlepů. Je logicky strukturována do jednotlivých kapitol dle obvyklých pravidel. Je sepsána na 118 stranách a je rozdělena do 6 přehledných kapitol. Doplněna je o adekvátní recentní literární a internetové odkazy.

V „teoretické části“ autorka shrnuje dosavadní poznatky o HSP, o mechanismech patogeneze a terapeutických přístupech, a též o její dědičnosti a možnostech molekulárně genetického vyšetření. Vystihuje podstatu práce a umožňuje komplexní pohled na studovanou problematiku. V dizertační práci je vytyčených 5 konkrétních cílů, které byly všechny splněny. V „experimentální části“ je detailně popsán soubor vyšetřovaných pacientů s HSP a použité metody (Sangerovo sekvenování, MLPA, sekvenování panelu genů pomocí masivního paralelního sekvenování, bioinformatické vyhodnocení a celoexomové sekvenování), což umožňuje bezproblémové opakování všech provedených analýz včetně vyhodnocení. „Výsledky“ jsou uvedeny zcela konkrétně a přehledně, doplněny o množství obrázků, tabulek a rodokmenů. Autorka zde velice detailně popisuje identifikované suspektní varianty, jejich případnou kauzalitu a vztah k fenotypu pacientů, příp. dalších členů rodiny. Taktéž zde uvádí



procentuální zastoupení jednotlivých typů HSP u českých pacientů. V kapitole „Diskuze“ autorka rozebírá získané výsledky, které porovnává s dostupnou literaturou. Diskutuje kauzalitu nalezených variant a frekvenci jejich výskytu v různých populacích, a též záchytnost použitých DNA diagnostických metod. Kromě toho zde autorka navrhuje algoritmus vyšetření pacientů se suspektní HSP, což je jedním z vymezených cílů této dizertační práce.

Z formálního hlediska jsem v předložené práci nenalezla žádné závažné nedostatky. Občas jsem narazila na maličkosti, jako např. že u některých obrázků a tabulek chybí odkaz v textu na ně, resp. nejsou přeloženy do češtiny (např. Tab. 3 na str. 46, Obr. 5 na str. 38, Obr. 7 na str. 50, ...), nebo jsou v práci drobné překlepy (např. str 45: roky „2017“ a „2018“ namísto „2016“ a „2017“, jak je uvedeno na str. 44).

Validitu získaných výsledků podtrhuje i publikační činnost autorky. RNDr. Anna Uhrová Mészárosová je autorkou tří článků publikovaných v recenzovaných časopisech. Dva z toho jsou v časopise s IF. Zároveň autorka výsledky získané v rámci doktorandského studia prezentovala i na zahraniční konferenci. Kromě toho autorka přikládá dva rukopisy. Jeden je v recenzním řízení a druhý je připravený na odeslání.

Nové poznatky

Autorka v této práci dospěla k několika novinkám na poli problematiky HSP u českých pacientů, a to:

- 1) Pomocí masivního paralelního sekvenování (MPS) zvýšila procento objasněnosti případů pacientů s HSP v české populaci.
- 2) Definovala nejčastěji se vyskytující typy HSP u českých pacientů.
- 3) Pomocí MPS a segreganční analýzy v rodině pacientů identifikovala nové, dosud nepopsané kauzální varianty spojené s fenotypem HSP.
- 4) Navrhla algoritmus vyšetření pacientů se suspektní HSP.

Význam práce pro další rozvoj vědního oboru a možnosti aplikace jejích výsledků v praxi

Výsledky práce byly publikovány v recenzovaných časopisech s IF, a lze tedy očekávat jejich citovanost. Kromě toho jsou získané výsledky využitelné v diagnostické praxi – pomohou identifikovat a klasifikovat pacienty s HSP, co může mít v blízké budoucnosti zásadní význam pro nastavení vhodných terapeutických postupů pro jednotlivé pacienty. Zapojení technologie MPS do problematiky genetických onemocnění je v současnosti velice progresivním a účinným nástrojem na poli diagnostiky a medicínského výzkumu.



Závěr

Předloženou dizertační práci hodnotím jako vysoce kvalitní, prokazující schopnost autorky samostatně analyzovat a interpretovat dosažené výsledky, a logicky je aplikovat do diagnostické praxe. Výsledky této práce jsou unikátní a pomáhají zvyšovat procento objasněnosti případů s HSP v české populaci, a tak umožňují navrhnout směřování dalšího výzkumu pro nalezení vhodných terapeutických postupů pro jednotlivé pacienty.

Práce splnila požadavky kladené na dizertační práci a prokazuje předpoklady autorky k samostatné vědecké práci. Proto ji zcela bez výhrad doporučuji k obhajobě. Současně doporučuji, aby byl po úspěšné obhajobě autorce udělen akademický titul doktor ve zkratce Ph.D. dle § 47 Zákona o vysokých školách č. 111/98 Sb.

V Olomouci dne: 16.8.2018

Mgr. Mária Janíková, Ph.D.
Ústav lékařské genetiky,
Ústav klinické a molekulární patologie,
LF UP a FN Olomouc