Oponentský posudek disertační práce

Název práce: **Varianty chromozomu 9 u člověka – od normy k patologii**

Epidemiologie a význam v klinické genetické praxi

Autor práce: **MUDr. Antonín Šípek**

Oponent: **RNDr. Vladimíra Vallová, Ph.D.**

Předkládaná disertační práce byla vypracována v rámci doktorského studijního programu *Molekulární a buněčná biologie, genetika a virologie* na 1. lékařské fakultě Univerzity Karlovy pod vedením MUDr. Aleše Panczaka, CSc.

Autor si dal za cíl prostudovat problematiku variant chromozomu 9, především inv(9), z různých pohledů – populačně epidemiologického, molekulárně cytogenetického a klinickogenetického. Z epidemiologického hlediska se jedná o dosud největší studii zahrnující úctyhodných více než 26 000 záznamů a pokrývající více než 30 let. Z hlediska molekulárně cytogenetického práce přispěla k zavedení nových metod umožňujících bližší diagnostiku jednotlivých subvariant chromozomu 9, které nejsou rozlišitelné běžně používanými metodami klasické cytogenetiky. Z hlediska možných klinických dopadů se práce soustředila na velmi aktuální problematiku reprodukčních poruch a poukázala na možnou souvislost heterochromatinových variant s těmito poruchami, především u žen. Práce využívá a dále rozšiřuje výsledky odborných sdělení autora, které byly publikovány v odborných časopisech (dvě publikace, které jsou v plném znění uvedeny v rámci příloh, v časopisech s IF).

Kvalita formálního zpracování práce

Práce je napsána česky, stylisticky a obsahově má velmi dobrou úroveň. Z formálního hlediska obsahuje vlastní textovou část členěnou na standardní kapitoly, a přílohy, které kromě pracovního postupu metody FISH a kompletních výsledků molekulárně cytogenetické analýzy zahrnují i dvě dříve zmíněné odborné publikace autora.
Všechny kapitoly jsou zpracované se znalostí problematiky a s využitím recentní literatury, o čemž svědčí i 159 citovaných literárních pramenů. Práce má jasně definované cíle a hypotézy, je vhodně doplněna tabulkami a obrázky. Celá práce je zpracována na velmi dobré odborné úrovni a prokazuje orientaci autora v řešené problematice.
Co mi v práci chybí, je souhrn publikační aktivity autora - ocenila bych seznam všech publikací autora např. v příloze, podobně jako je tomu v autoreferátu.

Aktuálnost řešeného tématu

Problematika heterochromatinových variant lidských chromozomů - a především chromozomu 9 - je v odborných kruzích probírána již několik dekád. Stále však zůstává jedním z nejdiskutovanějších témat, a to vzhledem k jejich dosud nejasnému klinickému významu a možnému mechanismu působení. Jde o problematiku, která je předmětem zkoumání na řadě pracovišť a u které zatím zůstává mnoho nezodpovězených otázek.

Odpovědi na některé z nich se snaží hledat i tato disertační práce. Soustředila se na velmi aktuální problematiku reprodukce a poukázala na možnou souvislost heterochromatinových variant s těmito poruchami především u žen.

Použité metody a postupy

Vzhledem k charakteru práce musel autor prokázat znalost různých metodických postupů, i proto je kapitola Metodika popsána velmi podrobně. Z „teoretických“ metod oceňuji především snahu o získání kvalitních kontrolních souborů, a to nejen při odhadu populačních četností inv(9), ale i při hledání možných klinických asociací této inverze. U „praktické“ metody fluorescenční *in situ* hybridizace je sympatická snaha o nalezení sond, které jsou komerčně dostupné, a tedy využitelné např. i pro jiné laboratoře. Celkově konstatuji, že pro získání a vyhodnocení výsledků autor použil vhodné metody zpracování a statistického vyhodnocení dat.

Výsledky práce

V rámci výsledkové části autor splnil všechny vytyčené cíle – problematiku variant chromozomu 9 zpracoval ze třech pohledů.

Z hlediska epidemiologického práce přináší dosud největší zpracovanou databázi variant chromozomu 9, a umožňuje tak odhadnout celkovou populační incidenci těchto variant v České republice. Rozsahem zpracování však práce může směle konkurovat i světové literatuře. Z molekulárně cytogenetického hlediska práce přinesla novou metodu rozlišování jednotlivých subvariant chromozomu 9, která v České republice není dosud běžně využívána. Fluorescenční *in situ* hybridizace s použitím kombinace tří různých sond umožnila bližší charakterizaci konkrétních subvariant chromozomu 9, které v budoucnosti mohou hrát důležitou roli v klinických souvislostech. Z klinickogenetického pohledu poukázala práce na možnou souvislost inv(9) a reprodukční poruchy u žen. Potvrdila tak nálezy jiných autorů a přispěla k diskusi o klinické významnosti heterochromatinových variant chromozomu 9 u člověka.

Publikace dosažených výsledků v odborných českých a světových časopisech i v časopisech s IF sama o sobě dokazuje kvalitu všech získaných výsledků.

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

Disertační práce MUDr. Antonína Šípka řeší stále aktuální problematiku variant chromozomu 9. Množstvím zpracovaných dat i zavedením nové metody dává pevný základ pro další výzkumné aktivity, které možná jednou povedou k odhalení dosud nejasného mechanismu působení. K tomu bude ale třeba detailní charakteristika jednotlivých variant v rámci rutinního vyšetření. Metoda FISH k němu může přispět a – jak se v rámci řešení práce ukázalo – už i reálně v praxi přispívá.

Dotazy

- Autor uvádí, že nález varianty chromozomu 9 není - při současných doporučeních - indikací k dalšímu vyšetření. Jaký postup by autor doporučoval s přihlédnutím k zavedené metodě FISH i jiným molekulárně (cyto)genetickým technikám?
- Autor správně konstatuje, že metody typu microarray nedokáží tento typ přestaveb blíže charakterizovat. Jaký typ microarray je na pracovišti autora používán? Je možné,

že nejnovější techniky masivně paralelního sekvenování vnesou do problematiky heterochromatinových variant u člověka více světla?

- Je možné nějak vysvětlit fakt, že v některých studiích zaměřených na reprodukční poruchy se inv(9) pojí se ženskou a v jiných spíše s mužskou reprodukcí?

Závěrečné hodnocení

Předložená disertační práce je obsahově i odborně na velmi dobré úrovni a rozsahem zpracovaných dat je v rámci České republiky i světa jedinečná. Autor v ní prokázal hlubokou znalost řešené problematiky, úspěšně naplnil stanovené cíle a prokázal svou schopnost vědecky pracovat.

Konstatuji, že práce splnila požadavky standardně kladené na disertační práci v daném oboru, proto ji doporučuji k obhajobě a k následnému udělení titulu Ph.D. autorovi.

[redacted]

V Brně 22.8.2019

RNDr. Vladimíra Vallová, Ph.D.

Ústav experimentální biologie
Přírodovědecká fakulta
Masarykova univerzita
A13/322, Kamenice 5, Brno