

## Oponentský posudek dizertační práce

Autor: **MUDr. Antonín Šípek**

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

Pracoviště: **Univerzita Karlova, 1. lékařská fakulta, Ústav biologie a lékařské genetiky 1. LF UK a VFN**

Vedoucí práce: **MUDr. Aleš Panczak, CSc.**

Oponent: **MUDr. Ivan Šubrt, Ph.D., Ústav lékařské genetiky, Univerzita Karlova, Lékařská fakulta v Plzni a FN Plzeň**

Předkládaná práce se zabývá epidemiologií, laboratorní diagnostikou a možnými klinickými dopady heterochromatinových variant lidského chromosomu 9. Tyto varianty představují jednu z nejčastějších skupin konstitučních variant lidského karyotypu; vývoj molekulárně cytogenetických i molekulárně genetických vyšetřovacích metod umožňuje dále zpřesňovat jejich klasifikaci a výzkum jejich vzniku a klinického významu nebyl proto dosud ukončen.

Autor svou práci člení klasicky do šesti hlavních částí. V úvodní teoretické části shrnuje poznatky o chromosomových aberacích a variantách u člověka a jejich klinických projevech. Podrobněji je rozebírána jejich morfologie, mechanismus vzniku a frekvence výskytu; část je doplněna přehledem publikovaných studií, zabývajících se možnými fenotypovými projevy výše uvedených heterochromatinových variant.

V další části práce jsou stanoveny cíle založené na sběru a hodnocení epidemiologických, molekulárně cytogenetických a klinických údajů ve vyšetřovaných souborech:

- vytvořit databázi případů heterochromatinových variant lidského chromosomu 9 a odhadnout jejich četnost v populaci ČR.
- navrhnout a zavést jednoduchou molekulárně cytogenetickou metodiku, umožňující charakterizaci heterochromatinových variant lidského chromosomu 9 nad rámec běžně využívaného G- a C-pruhování.
- zhodnotit možnou asociaci heterochromatinových variant lidského chromosomu 9 s vybraným fenotypovým projevem – poruchami reprodukce

Třetí část práce popisuje vyšetřovaný soubor a použité metody. Autorovi práce se podařilo zvýšit počet studovaných případů využitím údajů ze tří genetických pracovišť, určitá nehomogenita však vedla k nutnosti jejich rozdělení do většího počtu studovaných souborů (celkem 9). Metodika tohoto dělení i využití jednotlivých souborů k dílčím krokům výzkumu jsou však v práci detailně popsány. Použité laboratorní metody odpovídají dílčímu cíli, tj. zavedení jednoduché molekulárně cytogenetické metodiky, vhodné pro rutinní diagnostické využití; nezahrnují proto další pokročilé metody molekulární cytogenetiky ani metody molekulární.

Čtvrtá část práce je věnována podrobným výsledkům zhodnocení získaných epidemiologických, laboratorních a klinických údajů. Vzhledem k heterogenitě studovaných souborů a komplexnosti získávaných dat se autorovi nepodařilo vyhnout některým drobným nejasnostem a matematickým nepřesnostem v prezentaci výsledků, které však výsledky statistické analýzy ani celkové závěry studie negativně neovlivňují.

V další části autor široce diskutuje výsledky epidemiologické, laboratorní i klinické části předkládané práce oproti publikovaným výsledkům dalších světových pracovišť. Závěry nejsou s publikovanými poznatky včetně prací autorů úzce se zabývajících studovanou

problematikou v rozporu. Zdůrazněna je zejména potřeba dalšího výzkumu v oblasti mechanismu vzniku studovaných variant a jejich možného podílu na vzniku poruch reprodukce.

Závěrečná část shrnuje hlavní výstupy práce, dokládá splnění stanovených cílů a připojuje stručný výhled využití genetických laboratorních metod v souvislosti se studovanými konstitučními variantami lidských chromosomů.

Práce splňuje požadovaný rozsah, je formálně logicky členěna, psána přehledně, správnou češtinou, bez překlepů a typografických nedostatků. Výsledky jsou vhodně dokumentovány přehlednými tabulkami a grafy, drobné nepřesnosti byly zmíněny výše a kvalitu práce nesnižují. Text práce je doplněn 159 citacemi recentních zdrojů souvisejících s řešeným tématem. Přílohami práce jsou pracovní postup vzniklý jako výstup laboratorní části práce, detailní výsledky molekulárně cytogenetických vyšetření a dvě vědecké publikace v impaktovaných periodících (první autorství).

Zvolené téma je významné pro relativně vysoké zastoupení konstitučních heterochromatinových variant lidských chromosomů v populaci a dosud omezené poznatky o mechanismu jejich vzniku. Použité výzkumné metody jsou adekvátní a opírají se o kvalitní vědecké zázemí pracoviště autora. Stanovené výzkumné cíle byly splněny.

Vědecký význam práce spočívá především v epidemiologickém zhodnocení výskytu sledovaných variant chromosomu 9 v populaci ČR v rozsahu přesahujícím dosud publikované zdroje a v ověření molekulárně cytogenetické metodiky, založené pouze na metodě FISH s kombinací komerčně dostupných sond a přímo využitelné v diagnostické praxi. Otázky asociace sledovaných variant s patologickými změnami fenotypu zůstávají otevřeny pro další výzkum.

#### **Otázky:**

1. Poměr probandů ženského a mužského pohlaví v souboru #E (dárci pohlavních buněk) je významně odlišný od ostatních speciálních souborů. Čím tento rozdíl vysvětlujete a jak případně ovlivňuje celkové výsledky statistického hodnocení?
2. Jaké očekáváte přínosy moderních molekulárních metod masivně paralelního sekvenování (NGS) v diagnostice chromosomových aberací s přihlédnutím k potřebě detekce balancovaných aberací?

#### **Závěr:**

Předložená práce splňuje nároky na doktorskou dizertační práci. Autor prokázal schopnost formulovat a řešit vědecký problém a osvědčil tak svoje předpoklady k samostatné vědecké práci.

Dizertační práci hodnotím kladně a doporučuji ji k obhajobě. Dále doporučuji, aby v případě úspěšné obhajoby byl MUDr. Antonímu Šípkovi udělen akademický titul doktor (Ph.D.).

V Plzni 28. 8. 2019

MUDr. Ivan Šubrt, Ph.D.

Ústav lékařské genetiky, Univerzita Karlova, Lékařská fakulta v Plzni a FN Plzeň