

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE

2. lékařská fakulta

Klinika dětské hematologie a onkologie

V Úvalu 84, 150 06 Praha 5

Přednosta: prof. MUDr. Jan Starý, DrSc.



Tel.: 224436401

Diplomová práce **Bc. Ivy Trsové** „Lidská onemocnění způsobená zárodečnými mutacemi Hedgehog signální dráhy“ se věnuje vyšetření germinálních patogenních změn u genů *PTCH1* a *SUFU*. Práce, která má 75 stran je členěna obvyklým způsobem. V úvodu je velice dobře popsána SHH dráha a geny do ní zapojené. Dále je popsán mechanismus vlivu patogenních změn na poruchu kaskády a onemocnění, která jsou s touto poruchou spojena.

Soubor pacientů (30 a 10) je nízký, což je ale zapříčiněno nízkou incidencí onemocnění a byli vyšetřeni všichni dostupní pacienti.

Metodické postupy jsou vhodně zvolené a zavedení a zařazení NGS vyšetřovacího schématu naplňuje předpoklad lepšího záchytu patogenních variant u sledovaných onemocnění.

Ve vyšetřované skupině pacientů nebyla zachycena patogenní změna v *SUFU* genu, ale vzhledem k nízké incidenci těchto patogenních změn je tento výsledek akceptovatelný. Naopak v genu *PTCH1* byly prokázány dvě nové patogenní změny.

Jednotlivé stanovené cíle práce byly splněny

K práci mám následující komentáře a připomínky:

1. Meduloblastom není spojen pouze s SHH dráhou, tato skutečnost by měla být uvedena v diskusi při negativním nálezu vyšetření *PTCH1* a *SUFU* genu.

2. V diskusi by mohla být dále uvedena rozvaha negativních nálezů u pacienta, který splňuje kritéria pro Gorlinův syndrom.
3. Práce je psána velmi kvalitním jazykem s minimem překlepů, přesto jsem si některých všiml, například někdy autorka píše meduloblastom a na jiném místě medulobllastom, místo molekulárně olekulárně, názvy některých genů jsou psány kurzívou jiné nikoliv.

Dále mám na autora tyto otázky:

1. Proč byli do studie zařazeni i pacienti, kteří nesplňovali klinická kritéria Gorlinova syndromu?
2. Plánujete další vyšetřování pacienta, který splňuje klinická kritéria Gorlinova syndromu, ale neprokázali jste u něj mutaci v genech *PTCH1* a *SUFU*, a pokud ano, jakým postupem?
3. Plánujete ověření Vámi nově prokázaných změn v genu *PTCH1* na úrovni mRNA případně proteinu?
4. V závěru práce uvádíte, že budete prokázané změny validovat pomocí MLPA a sangerova sekvenování. Jste tedy přesvědčeny, že na vašem panelu NGS a použitém algoritmu detekce CNV, je citlivost dostatečná, když nebudete vyšetřovat všechny vzorky pomocí MLPA? Na námi ověřovaných algoritmech a NGS panelech, kde porovnáваме vyšetření ze SNP array a NGS, prokazujeme často falešnou negativitu u target panelů NGS.

Celkově je práce velice dobrá. Autorka splnila zadání a cíle práce a práci předložila v dobré formální úpravě. Práci doporučuji k obhajobě a hodnotím známkou výborně.

V Praze, 6.9.2019

MUDr. Aleš Vícha, PhD.

