



CHARLES UNIVERSITY
First Faculty of Medicine

Laboratoř pro studium vzácných nemocí, Klinika dětského a dorostového lékařství, 1. Lékařská fakulta, Univerzita Karlova

Oponentský posudek na diplomovou práci

Glaukom – genetická analýza rodiny ve vztahu k autoimunitnímu pozadí

Autor: Bc. Aneta Buchtelová

Školitel: RNDr. Pavlína Daňková, Ph.D.

Konzultant: Mgr. Dominika Mravec Bencúrová

Oponentka: Ing. Ľubica Ďudáková, Ph.D.

Předkládaná diplomová práce byla vypracovaná na Katedře antropologie a genetiky člověka, Přírodovědecké fakulty Univerzity Karlovy a je zaměřena na ověření možné asociace glaukomu a autoimunitního onemocnění za pomoci genotypovací analýzy (PCR-RFLP, analýza HRM a přímé sekvenování).

Nejnovější studie poukazují na možnou asociaci různých autoimunitních onemocnění v souvislosti s progresí glaukomu. Na myším modelu bylo prokázáno, že jde především o T-lymfocyty, které jsou v důsledku zvýšeného nitroočního tlaku schopné difundovat přes retinální bariéru a atakovat retinální gangliové buňky (Chen et al., 2018, Nature Communication). Možná asociace glaukomu a celiakie nebyla dosud zkoumána, proto se téma diplomové práce jeví jako aktuální a velice zajímavé.

Autorka definuje tyto cíle:

- Na základě dostupných publikací vybrat a zmapovat přítomnost rizikových genetických markerů v rodině s potvrzeným i suspektním glaukomem a autoimunitními chorobami (celiakie, T1D, psoriáza).
- Dílčí cíl: Navrhnout primery pro dané rizikové genetické varianty a optimalizovat podmínky PCR reakcí.
- Na modelu třígenerační rodiny s mnohonásobným výskytem autoimunitních onemocnění a glaukomu ověřit, zda daný genotyp koreluje s fenotypem jedinců a prozkoumat tento vztah (genotyp-fenotyp).

Hodnocení práce

Struktura a členění práce je standardní a odpovídá požadavkům. Teoretický úvod je koncipován přehledně, správně zacílen bez zbytečných informací přímo nesouvisejících s tématem.

Kapitola Metody je poměrně obsáhlá. Tabulku 1 považuji za nadbytečnou, jelikož je to jenom jiný zápis dat z Obrázku 7. Naopak bych ocenila Tabulku pro podkapitolu 3.4.2, jelikož podrobný popis podmínek PCR reakcí zabírá 5 stránek. Pro centrifugaci se udávají hodnoty v „g“ (uhlová rychlost) a ne „rpm“ (otáčky za minutu), které navíc autorka „přejmenovala“ na

„rmp“. Pro techniku RFLP by bylo vhodné zařadit pozitivní kontrolu, na které by se dalo ověřit, že příprava reakce a samotné štěpení proběhlo správně.

Positivně hodnotím názorné obrázky použité v celé diplomové práci. Výsledky jsou podány přehledně a postupně dle předeslaných cílů. V diskuzi se autorka věnuje postupně všem získaným výsledkům. Náplň abstraktu a závěru diplomové práce odpovídají určení těchto kapitol.

Jazyková a stylistická úroveň textu je dobrá, narazila jsem ale na nepřesnosti, například strana 23 – kapitola o genu *PAX6*

„Je lokalizován na krátkém raménku chromozómu 11 (konkrétně region 11p13) a obsahuje více jak 10 exonů.“

Autorka chtěla pravděpodobně naznačit různé transkripční varianty tohoto genu.

*„Defekty *PAX6* asociované s aniridií jsou různorodé – může se jednat o mutace způsobující posun čtecího rámce (inzerce, delece), ale i o aminokyselinové záměny, známy jsou jak tzv. missence mutace, jež způsobují záměnu aminokyseliny za jinou a s jinou funkcí, tak i ty, které způsobují záměny synonymní (Tzoulaki, White, & Hanson, 2005).“*

Věta by chtěla upravit po stylistické stránce.

*Genetické změny *PAX6* související s glaukomem jsou především v rámci aminokyselinových záměn, mezi nimi například tzv. nonsense (vedou ke vzniku STOP kodonu a předčasnému ukončení translace) – tedy Cys40X, Trp156X, Arg203X nebo Arg317X (Chao, Huff, Strong, & Saunders, 2000; Dharmaraj et al., 2003; Vincent, Pujo, Olivier, & Calvas, 2003) (URL1).*

Nonsense mutace nepatří mezi aminokyselinové záměny.

V Tabulce 16 bych preferovala popis na úrovni DNA, tzn. pro rs28939688 jako c.148G>A.

K práci mám následující dotazy:

- Jaké různé transkripční varianty genu *PAX6* jsou známy?
- Jaké typy mutací jsou známé?
- Jsou u pacientů s celiakií popisovány oční onemocnění jiné než glaukom?
- V Obrázku 14 je dle popisku v skupině s glaukomem pouze jeden jedinec, který ale tvoří dle grafu cca 30%. Co je ostatních 70% této skupiny?
- Mohla by autorka stručně zhodnotit, kam povedou další kroky výzkumu dané problematiky a proč?

Závěrem lze říci, že práce je psána srozumitelně a lehce se čte; autorka si dala záležet na vysvětlení použitých metod a zejména pak přístupů, které zvolila pro analýzu dat. Obdobně kapitola s výsledky je psána pečlivě a celkově práce budí dojem, že autorku daná problematika zajímá a výzkum v této oblasti ji baví. I přes drobné výtky formálního charakteru diplomovou práci Anety Buchtelové doporučuji k obhajobě a navrhuji hodnocení chvalitebně.

Datum: 9. 9. 2019

Ing. Lubica Ďudáková, PhD.

Ďudáková