

Univerzita Karlova	8230
Vytvořeno: 24.09.2021 v 13:11:45	Odbor
Čj.: UK2LF/417489/2021	PaM
Č.dop.:	Zprac
Listů: 3 Příloh: 0	
Druh: písemné	

Oponentský posudek



habilitační práce MUDr. Petry Laššové, Ph.D.:

Hledání vzácných a objevování nových příčin dědičných periferních neuropatií v ČR

V první části habilitační práce předkladatelka shrnuje základní dělení a klasifikaci dědičných periferních neuropatií, které jsou rozsáhlou klinicky i geneticky heterogenní skupinou onemocnění a které patří k nejčastějším geneticky podmíněným nervosvalovým chorobám v populaci s prevalencí 1 : 2 500. Klasifikace onemocnění prošla komplikovaným vývojem a utvářela se v poslední době především na podkladě DNA analýzy, umožňující odhalit příčinné patogenní genetické varianty. Rozvoj masivně paralelního sekvenování přinesl enormní nárůst poznatků, což vyústilo v návrhu klasifikace hereditárních neuropatií dle dědičnosti a kauzální genové mutace. Přestože léčba dědičných neuropatií není zatím možná, znalost příčinné mutace a přesné určení genového přenosu má význam nejen pro konkrétní rodinu, ale umožňuje rovněž studovat funkci jednotlivých genů ve vztahu k rozvoji onemocnění.

Hlavním cílem habilitační práce bylo zjistit, jaké jsou molekulární příčiny dědičných neuropatií u pacientů, u nichž se dosud použitými metodikami DNA analýzy podstatu nepodařilo objasnit. Dílčím cílem bylo odhalování nových genových mutací u vzácných dědičných neuropatií a provedení fenotypově-genotypové analýzy. Ke splnění výše uvedených cílů přispělo především zavedení nových metodik DNA analýzy, k nimž patří především masivní paralelní sekvenování. Dalším úkolem bylo vytvoření panelu všech dosud známých genů, jejichž patogenní varianty vedou k dědičným neuropatiím a navržení spolehlivosti postupu při vyhodnocování dat. Stěžejním úkolem tedy bylo zlepšení úrovně neurologické a genetické diagnostiky.

Masivní paralelní sekvenování (MPS) panelu genů bylo započato v Neurogenetické laboratoři kliniky dětské neurologie, vedené MUDr. P. Laššuthovou, již v r. 2016. Poslední používaná verze pokrývá oblast 102 genů, jejichž patogenní varianty jsou spojovány s hereditárními neuropatiemi. K dalším metodikám DNA analýzy, které byly při odhalování příčin onemocnění použity, patří celoexomové sekvenování (WES) a případně i sekvenování celého genomu (WGS). Všechna data byla hodnocena více nástroji a algoritmy. Na základě zhodnocení účinnosti jednotlivých uvedených metod, využívaných při pátrání po vzácných genových variantách, autorka v současné době považuje metodiku WES s následnou analýzou virtuálního panelu genů za neoptimálnější.

Získané výsledky a publikační výstupy autorka rozdělila do pěti skupin. Jednalo se o zavedení MPS a souhrn získaných výsledků, dále studii, zaměřenou na jednotlivé geny, další část se týkala odhalování nových příčin dědičných neuropatií a zhodnocení fenotypů a konečně bioinformatické práce.

V průběhu práce byla vytvořena unikátní databáze všech českých pacientů, přičemž u 2 313 byl na základě DNA analýzy odhalen genový defekt. Vyšetření základních typů dědičných neuropatií (*CMT1A/HNPP*, *MPZ*, *MFN2* a *GJB1*) se v 80 % případů podařilo objasnit metodikami MLPA a klasickým sekvenováním. Nejčastěji (v 62,5 %) byly zastoupeny delece a

duplikace genu *PMP22*, což koreluje s celosvětovými údaji. U skupiny pacientů, u nichž se kauzální mutaci nepodařilo odhalit pomocí základních metodik, bylo provedeno masivní paralelní sekvenování nebo celoexomové sekvenování a v některých případech rychlé testy na prevalentní mutace. Tyto postupy vedly k objasnění příčiny onemocnění u téměř 200 pacientů ze 170 rodin. Převážně se jednalo o velmi vzácné dědičné neuropatie, u nichž běžné metody DNA analýzy neodhalily kauzální genový defekt.

Nejvýznamnějším vědeckým výsledkem na mezinárodní úrovni je objevení mutace v genu *ATP1A1*, jako nové příčiny hereditární neuropatie. Rovněž odhalení dalších vzácných mutací genů *SH3TSC2*, *HIND*, *SORD* a *SBF2* je významným vědeckým objevem. Nově zjištěné genové mutace spolu s podrobným neurologickým nálezem, doplněným rodokmenovou studií a obrazovou dokumentací pacientů, byly publikovány v renomovaných zahraničních časopisech. Součástí habilitační práce je 16 příloh s publikacemi, které se týkají výše uvedené problematiky, kde je autorka prvním korespondujícím nebo posledním autorem. O vysoké vědecké úrovni těchto prací svědčí i zapojení do několika mezinárodních výzkumných projektů (v Evropě konsorcium ENISNIP, věnující se objasňováním příčin HSN, Charcot-Marie-Tooth and related neuropathies consortium a aplikace Genesis, umožňující analyzovat data z NGS v USA)

Význam předkládané práce tkví v několika hlavních aspektech. Podařilo se upřesnit neurologickou diagnostiku, která je v současné době na úrovni vyspělých zemí. Z genetického pohledu nové moderní metody DNA analýzy umožnily objasnit příčinu hereditární neuropatie v rodinách, kde klasickými metodikami nebyla odhalena. Takto je možno lépe určit prognózu onemocnění a rovněž upřesnit genetická rizika. Stanovení typu genetického přenosu je při genetických konzultacích pro rodinu zásadní. Při vysokých genetických rizicích (dědičné neuropatie jeví autozomálně dominantní, recesivní a X- vázanou dědičnost) je možno rodinám při plánování gravidity nabídnout možnost prenatální nebo preimplantační diagnostiky.

O mimořádné kvalitě práce MUDr. P. Laššuthové a jejího týmu svědčí získání Ceny ministra zdravotnictví za zdravotnický výzkum a vývoj. Tato cena byla udělena po obhájení grantu AZV 106-30206 „Celoexomové a RNA masivně paralelní sekvenování jako nástroj pro objasnění vzácných příčin dědičných neuropatií „

Tématem habilitační práce MUDr. Laššuthové je hledání vzácných a objevování nových příčin dědičných neuropatií. Vzhledem k tomu, že jsou dědičné neuropatie klinicky i geneticky velmi heterogenní skupinou, je DNA analýza kauzálních mutací z hlediska neurologické a genetické diagnostiky velmi náročná. Hlavním cílem habilitační práce bylo zjistit, jaké jsou molekulární příčiny dědičných neuropatií u pacientů, u nichž se dosud použitými metodikami DNA analýzy podstatu nepodařilo objasnit. Dílčím cílem bylo odhalování nových genových mutací u vzácných dědičných neuropatií a provedení fenotypově-genotypové analýzy. Ke splnění výše uvedených cílů přispělo především zavedení nových metodik DNA analýzy, k nimž patří především masivní paralelní sekvenování a celoexomové sekvenování (WES). Dalším úkolem bylo vytvoření panelu všech dosud známých genů, jejichž patogenní varianty vedou k dědičným neuropatiím a navržení

spolehlivosti postupu při vyhodnocování dat. Stěžejním úkolem tedy bylo zlepšení úrovně neurologické a genetické diagnostiky. Nově zjištěné genové mutace spolu s podrobným neurologickým nálezem, doplněným rodokmenovou studií a obrazovou dokumentací pacientů, byly publikovány v renomovaných zahraničních časopisech. Součástí habilitační práce je 16 příloh s publikacemi, které se týkají výše uvedené problematiky, kde je autorka prvním korespondujícím nebo posledním autorem. O vysoké vědecké úrovni těchto prací svědčí i zapojení do několika významných mezinárodních výzkumných projektů.

Výše uvedené cíle byly zcela splněny. Grafická i jazyková úroveň habilitační práce je perfektní.

Otázky.

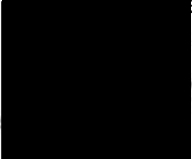
1. V diskusi MUDr. P. Laššuthová uvádí, že pokud základní baterie DNA testů nevede k nalezení kauzální příčiny, pokračuje DNA analýzou metodikou WES s následnou analýzou virtuálního panelu genů. Jak často se setkala s odhalením náhodných nálezů, které nesouvisí s onemocněním a jak postupovala při jejich interpretaci?
2. Některé ze vzácných hereditárních neuropatií mají těžký průběh již od raného věku. Má autorka zkušenosti s DNA analýzou v případech, kdy na základě rozhodnutí rodiny byla provedeno CVS nebo preimplantační diagnostika?

Originalita habilitační práce byla posouzena prof. MUDr. Karlem Šonkou, DrSc., předsedou habilitační komise. Kontrola původnosti byla analyzována systémem Turnitin. Nebyla nalezena žádná shoda s jinou prací. Shoda se týkala jen názvu jednotlivých genů, citovaných prací, názvu institucí a názvu jednotlivých onemocnění.

Výsledek kontroly svědčí jednoznačně o originalitě habilitační práce MUDr. Petry Laššuthové, Ph.D.

Závěr: Po zhodnocení předložené habilitační práce i dalších vědeckých a pedagogických aktivit MUDr. Petry Laššuthové, Ph.D. doporučuji je uznat za dostatečné pro příslušné habilitační řízení. Jsem přesvědčena, že jmenovaná má všechny předpoklady pro přiznání vědecko-pedagogického titulu „docent lékařské biologie“ podle ustanovení Zákona o vysokých školách č. 111/1998 Sb.

V Olomouci, 20. 9. 2021

 Mgr. Alena Šantavá, CSc.
genetiky LF UP