

Oponentský posudek na disertační práci

název: „Optimalizace novorozeneckého screeningu cystické fibrózy v České republice“, autorka: MUDr. Veronika Krulišová

Olomouc, 13. září 2014

Předkládaná disertační práce byla vypracována na pracovišti Ústavu biologie a lékařské genetiky 2. Lékařské fakulty Univerzity Karlovy v Praze, pod vedením prof. MUDr. Milana Macka jr., DrSc.

Autorka prezentuje svou práci formou komentované verze dizertační práce. V plném rozsahu je zde předloženo pět publikací. V jedné z přetištěných publikací, otištěné v Eur. J. Pediat. s IF 1,907, je předkladatelka prvoautorkou. Spoluautorkou je studentka v dalších třech člancích v impaktovaných časopisech (2x J. Cyst. Fibros. s IF 2,873 a PLoS One s IF 3,73) a v jednom neimpaktovaném článku (Čes-slov. Pediat). Všechny použité publikace jsou na výborné úrovni, o čemž svědčí výčet a kvalita uvedených časopisů.

Cíle dizertační práce jsou velmi detailně stanoveny:

- 1) Zhodnocení hypotézy o výhodnosti parametrů screeningových protokolů založených na stanovení koncentrace PAP ve druhém analytickém stupni. Hlavním cílem bylo porovnat proveditelnost, senzitivitu a specificitu současného celoplošného screeningového protokolu IRT/DNA/IRT a protokolů IRT/PAP a IRT/PAP/DNA.
- 2) Zhodnocení senzitivity a specificity IRT/PAP protokolů v závislosti na zvolených cut-off hodnotách pro IRT a PAP. Hlavním cílem bylo ověřit, že optimálně nastavené cut-off hodnoty v rámci IRT/PAP schémat představují vhodnou alternativu pro státy nebo oblasti které z nejrůznějších důvodů nemohou začlenit molekulárně genetické vyšetření genu CFTR jako součást screeningových schémat.
- 3) Charakteristiky zastoupení jednotlivých mutací v genu CFTR v České republice. Hlavním cílem, v souvislosti s celoplošným screeningovým programem pro CF, bylo ověřit, že populačně specifické mutace v genu CFTR, které jsou součástí používané diagnostické soupravy, nepředstavují překážku v dosažení vysoké senzitivity současného celoplošného protokolu IRT/DNA/IRT.
- 4) Zhodnocení efektivity screeningového programu pro CF v České republice od jeho zavedení v roce 2009 do konce roku 2012.
- 5) Zhodnocení vlivu zvyšujícího se počtu novorozenců od přistěhovalců z evropské části Ruské federace a Ukrajiny na území České republiky na senzitivitu protokolů IRT/DNA/IRT a IRT/PAP/DNA.

Všechny tyto stanovené cíle jsou v práci pečlivě zpracovány, včetně vyvození relevantních závěrů.

Hodnocení předložené disertační práce sleduje následující oponentská kritéria:

1/ Aktuálnost řešeného tématu

Cystická fibróza je závažné a dosud nevléčitelné onemocnění a i vzhledem k jeho frekvenci je kvalitní novorozenecký screening nesmírně potřebný a užitečný. Pouze kombinace časné diagnostiky s moderní cílenou léčbou přináší pacientům s CF naději na delší přežívání a kvalitnější život.

2/ Použité metody a postupy

Ve všech uvedených publikacích jsou používány aktuální technicky dostupné a eticky přijatelné metody. Jsou hodnoceny různé kombinace biochemických screeningových vyšetření IRT resp. PAP a DNA analýza populačně specifických mutací (především Elucigene CF-EU2[™] assays). Posuzováno je rovněž využití NGS pro širší mutační spektrum, případně možnosti cel genomového sekvenování (WGS).

3/ Výsledky práce

Jediný způsob umožňující včasnou diagnostiku CF a tedy i efektivní léčbu CF pacientů je celoplošný screeningový program (NSCF), proto jeho spolehlivost je velmi žádoucí.

V práci bylo ověřeno, že současný protokol IRT/DNA/IRT je vysoce efektivní a účinný při odhalování pacientů s CF v době, kdy u nich ještě nejsou plně přítomny klinické příznaky onemocnění. Tento protokol dosahuje dobré senzitivity i specifity.

Zefektivnění může být dosaženo zavedením dalšího analytického mezistupně – proteinu asociovaného s pankreatitidou v podobě schématu IRT/PAP/DNA. Protokol IRT/PAP/DNA, za předpokladu vhodně zvolených cut-off hodnot pro IRT a PAP a dostatečně širokého spektra vyšetřovaných mutací genu CFTR, nabízí dosažení vyšší senzitivity a přitom možnost snížení počtu prováděných molekulárně genetických analýz na cca jednu polovinu.

Výsledky této práce jsou podkladem pro plánované zavedení screeningového schématu IRT/PAP/DNA do klinické praxe v nejbližších letech. NSCF by tak mohl dosáhnout ještě vyšší specifity při snížení finančních nákladů.

Je zvažováno zařazení mutace p.Gln685ThrfsX4, vyskytující se ve zvýšené míře na Ukrajině a v Rusku, do českého screeningového programu pro CF.

4/ Kvalita formálního zpracování disertace

Předložená práce má rozsah 135 stran včetně citací a je členěna na kapitoly: Úvod, Cíl dizertační práce, Publikace (všech pět použitých publikací je vždy komentováno formou podkapitol: Úvod k publikaci, Výsledky a diskuze, Závěr). Dále práce obsahuje Shrnutí, Přehled publikací, přednášek, posterů, Seznam použitých zkratk a Použitá literatura. Disertace je velmi přehledná, s velmi dobrou úpravou, prakticky bez překlepů. I po formální stránce je tedy práce na velmi dobré úrovni.

Závěr:

Disertační práce je věcná, přehledná a má velmi dobrou vědeckou úroveň.

Na předložené práci jsem nenašel žádné nedostatky. Studentka **prokázala samostatné tvůrčí schopnosti** a její práce obsahuje původní a uveřejněné výsledky. **Požadavky kladené na disertační práci jsou tedy splněny** a mohu ji plně doporučit k obhajobě, neboť odpovídá svým obsahem a rozsahem paragrafu 47 odstavce 4 Zákona o vysokých školách (č. 111/1998 Sb).

Na základě výše uvedených skutečností doporučuji tuto práci přijmout v předložené formě k obhajobě a na základě úspěšné obhajoby doporučuji uchazeče udělit akademický titul Ph.D.

doc. RNDr. Radek Vrtěl, Ph.D.