

Oponentský posudek

na disertační práci Mgr. Roman Šolce vypracované na Přírodovědecké fakultě UK
Katedra antropologie a genetiky člověka

Téma:

Molekulárně genetická analýza vybraných kryptických přestaveb lidských chromosomů

Předložená disertační práce Mgr. Romana Šolce shrnuje výsledky několikaletého výzkumu, jehož stěžejním cílem bylo studium vybraných vrozených kryptických přestaveb lidských chromosomů. Práce se konkrétně zaměřuje na tři základní oblasti výzkumu: objasnit úlohu kryptických chromosomových aberací v patologii mentálních retardací a kostních dysplázií, konkrétně u pacientů s Leri-Weillovou dyschondrosteózou nebo idiopatickým malým vzrůstem a u pacientů s trichorhinofalangeálním syndromem.

Po formální stránce se jedná o disertační práci souhrnnou, spočívající v komentovaném souboru publikovaných prací autora. Předložená doktorská disertační práce je proto velmi stručná, obsahuje 23 stránek vlastního textu a 5 příloh zahrnující odborné články, u nichž je ve 2 případech Mg. R. Šolc prvním autorem a 3 jsou publikace spoluautorské. Dále je k práci doložen seznam použitých zkratk, citovaná literatura (88 citací), výstupy výzkumu definující podíl autora na doložených publikacích a seznamy příspěvků autora na mezinárodních i tuzemských odborných konferencích.

Vlastní práce začíná stručnou kapitolou **Koncepce a struktura práce**, dále následuje stěžejní část práce kapitola **Souhrn výzkumné problematiky**, kterou autor rozdělil do tří částí, v nichž autor shrnuje literární údaje poukazující na význam kryptických chromosomových přestaveb asociovaných s mentální retardací, kryptické přestavby pseudoautosomálního genu I a kryptické přestavby chromosomálního regionu 8q24. Tyto podkapitoly jsou vždy v závěru doplněny shrnutím výsledku výzkumu, který se vztahuje k dané problematice a je součástí doložených publikací. Celá práce je zakončena třístránkovou kapitolou **Perspektivy výzkumu**, ve které se autor pokusil zasadit význam výzkumu kryptických chromosomových aberací z hlediska rozšíření poznatků o přirozené strukturní variabilitě člověka, jejich vlivu na fenotyp a patologickém fungování genů. Přílohou práce jsou publikované práce doktoranda.

Nové poznatky

Je zřejmé, že předložená disertační práce přinesla řadu nových poznatků, které již byly publikovány v recenzovaných časopisech s IF a které, jak předpokládám, stanou základem pro další zkoumání dané problematiky:

K oblasti výzkumu 1: V souladu s definovanými oblastmi výzkumu se autor podílel na vyšetření 64 probandů pomocí techniky MLPA s diagnostikovanou mentální idiopatickou retardací a popsal kryptické přestavby u 16 % (3 mikroduplikace, 6 mikrolece). V rámci druhého výzkumného tématu autor popsal kryptické přestavby a mutace v genu *SHOX* a jeho regulačních oblastech v rámci výzkumu provedeného na 98 jedincích s diagnostikovanou Léri-Weillovou dyschondrosteózou nebo idiopatickým vzrůstem, prokázal nepatogenní polymorfismus delece L05101 v PAR1 u pacientů s ISS a podílel se na studii, jejímž cílem bylo porovnat frekvenci a rozložení duplikací v rámci genu *SHOX* a souvisejících elementů mezi populačním souborem (250 jedinců) a pacienty s LWDS/ISS. Ve třetí oblasti zájmu se autor podílel na výzkumu mutací genu *TRPS1* provedeném u souboru 9 jedinců s trichorhinofalangeálním syndromem, kde se podařilo prokázat pomocí techniky MLPA prokázána 1 delecí v klíčové oblasti 8q24 a následnou mutační analýzou 5 mutací v genu *TRPS1*.

Lze tedy shrnout, že předložená disertační práce Mgr. Romana Šolce přináší nové poznatky o úloze kryptických chromozomových aberací v patogenezi v mentálních retardacích a kostních dyspláziích využitelné v rutinní diagnostice těchto genetických onemocnění a dostatečně prokazuje schopnost autora orientovat se v dané problematice i samostatně zpracovávat množství literárních i laboratorně získaných dat.

Připomínky a dotazy k disertační práci

Jak již bylo zmíněno, předložená disertační práce má formu komentovaného souboru pěti publikovaných článků doprovázených úvodním souhrnem.

Přestože při dostatečném počtu publikací je tato forma disertační práce studenty stále více využívaná, tak se domnívám, že přes nespornou kvalitu presentovaných dat mohla být po formální stránce teoreticky poněkud lépe zpracována.

Tak například postrádám jasně definovaný Cíl disertační práce. Autor na str. 1 sice píše...že „středobodem jeho zájmu byly kryptické strukturní aberace chromozomů...“ ale co chtěl konkrétně prokázat nikde nedefinoval. Oponent pak může jen těžko zhodnotit, jak předložená DP splnila plánované cíle.

Uvítal bych též podrobnější zmínku o metodách použitých v rámci řešení disertační práce. U jednotlivých publikací autor sice obecně píše...že provedl značnou část laboratorních analýz...ale jaké metody prováděl, se nedozvíme. Mohly by autor přesně definovat, s jakými laboratorními technikami práce má praktické zkušenosti?

V úvodní části práce autor v kap. 2.1. shrnuje význam kryptických přestaveb chromozomů. Toto téma je sjednocující částí práce, avšak tato teoretická stať je zpracována na cca 3 stránkách, přináší pouze obecné informace s řadou nepřesností, většinou citací starších 10 let a mohla být pojata mnohem podrobněji. Výzkum v této oblasti jde velmi rychle kupředu a řada podstatných informací v textu chybí.

- 1) Tak např. autor hovoří o metodě mFISH a SKY jako jedné z metod pomocí kterých je možné detekovat kryptické aberace chromozomů, přičemž za kryptické aberace považuje přestavby menší než 3 – 5 Mb. Nedomnívám se, že metoda SKY je vhodná pro detekci kryptických přestaveb, jako jsou např. mikroleční syndromy. Jaké je rozlišení metod mFISH a SKY a jakými metodami se detekují v klinické praxi rutinně mikroduplikační a mikroleční syndromy?
- 2) Kryptické přestavby chromozomů, speciálně mikrolece a mikroduplikace se nyní člení na rekurentní a nerekurentní – jaký je mezi nimi rozdíl a jakými mechanismy vznikají ?
- 3) V souvislosti s patogenními CNVs se v současné době razí koncepce tzv. „genomic disorders“. Mohl by autor vysvětlit, o co se jedná a jaká je četnost těchto onemocnění?
- 4) Jakými genetickými mechanismy mohou ovlivňovat mikrolece a mikroduplikace patologický fenotyp pacientů?
- 5) Jaké mechanismy může autor vysvětlit rozdílnou varabilní expresivitu u pacientů se stejným mikrolečním či mikroduplikačním syndromem?
- 6) Na straně 5 autor píše, že genetickou příčinu MR lze najít u 17 – 41 % pacientů. Tyto údaje jsou již poněkud zastaralé, kdy autor zcela opomíjí přínos NGS. Jaké jsou poslední informace o genetických příčinách MR?

K výsledkům disertační práce – autor svoji disertační práci člení tématicky do tří oblastí, kdy na konci každá kapitoly shrnuje obsah publikací vztahující se k tématu. Nicméně z těchto informací obsažených v textu disertační práce se oponent příliš nedozví, co vlastně doktorand zjistil. Tak např. na straně 7 je obsah publikace I pojednávající o nálezech kryptických přestaveb u MR shrnut do 5 nicneřikajících řádků, ze kterých se pouze dozvíme, o čem je publikace a že kryptické přestavby byly nalezeny u 10 % pacientů s MR. Jakýkoli podrobnější rozbor nálezů zde chybí. Podobné je to i u publikací II –V. v dalších subkapitolách.

Domnívám se, že přes doložené publikace v příloze mohl doktorand ve vlastní práci dosažené výsledky shrnout mnohem podrobněji, alespoň tak, jak to má v doloženém Autoreferátu, kde je každá publikace komentována podrobným Souhrnem, ze kterého čtenář získá mnohem více informací.

Závěrečná kapitola Perspektivy výzkumu se snaží dosažené poznatky zasadit do širších souvislostí. Zde by bylo též vhodné zmínit přínos technik využívaných v rámci řešení disertační práce. V této souvislosti bych měl dotaz na doktoranda, jaké postavení má metoda MLPA v současné diagnostice MR či kostních dysplazií a jaké jsou současné doporučované či používané postupy diagnostiky kryptických chromozomových aberací u pacientů s MR a VVV? Může z toho autor vyvodit nějaké závěry?

Závěrečné hodnocení:

I přes uvedené připomínky k formě předložená disertační práce celkově splňuje kritéria kladené na disertační práci. Výsledky práce byly publikovány v recenzovaných časopisech s IF s praktickým využitím získaných poznatků v klinické praxi.

Závěrem mohu konstatovat, že doktorand má tvůrčí schopnosti v oblasti výzkumu a proto jeho práci doporučuji postoupit k obhajobě.

V Brně 13.1.2018

doc. RNDr. Petr Kuglík, CSc.