

Oponentský posudek na doktorskou práci MUDr. Veroniky Krulišové :

Optimalizace novorozeneckého screeningu cystické fibrózy v České republice

Práce Dr. Krulišové vychází z renomovaného pracoviště 2. Lékařské fakulty, jejím vedoucím byl prof. MUDr. Milan Macek, Jr., konzultantem byl doc. Felix Votava. Hlavním tématem této práce ze studijního programu Biomedicína je zhodnocení metod neonatálního screeningu cystické fibrózy, vyhodnocení jejich efektivity v našich podmínkách a evaluace celkové strategie celoplošného screeningu cystické fibrózy v České republice, tedy témat, která mají značný dopad na zdraví populace.

Práce a publikační činnost

Práce má 135 stran včetně přiložených publikací a literatury. V teoretické části práce autorka na 24 stranách přehledně popisuje v přiměřeném rozsahu cystickou fibrosu, její klinické projevy a formy, molekulární příčiny a patofyziologii. Detailně objasňuje role proteinů, které se přímo či nepřímo účastní transportu chloridových a sodíkových iontů v postižených tkáních. Popisuje rozdělení mutací genu CFTR popsaných u pacientů s cystickou fibrosou do pěti tříd, jejich patofyziologické účinky a případné fenotypové asociace. Dále objasňuje principy současné léčby cystické fibrózy a vysvětluje důvody pro zavádění novorozeneckého screeningu. Detailně se zabývá metodami využívanými pro screening cystické fibrózy a výhodami a nevýhodami jejich kombinací, tak jak jsou využívány v screeningových programech různých zemí.

K práci je přiloženo pět publikací, z nichž čtyři byly uveřejněny v zahraničních časopisech s dobrým impakt faktorem (1.9 – 3.73), pátý, který shrnuje výsledky rozšířeného novorozeneckého screeningu v ČR, vyšel v Česko-Slovenské pediatrii. Všechny publikace se vztahují k tématu práce a dokumentují splnění cílů práce, dvě z nich jsou zjevně výsledkem spolupráce s více zahraničními pracovišti. Na dvou publikacích v časopisech s impaktem je dr. Krulišová na čelném místě v seznamu autorů (jednou je první autorkou, jedenkrát je na druhé pozici). Každá publikace je v textu teze provázena shrnutím výsledků s diskusí a závěrem v rozsahu několika stránek, což usnadňuje čtenáři orientaci v publikaci. Dr. Krulišová zde uvádí na některých místech i poznatky, který nebyly v publikaci přímo zahrnuty – to se týká například detailů hodnocení jednotlivých screeningových metod.

Dr. Krulišová je spoluautorkou dalších impaktovaných a neimpaktovaných článků, které jsou uvedeny v práci pouze jako odkaz. Dále jsou uvedena abstrakta z konferencí, kde autorka prezentovala orální nebo posterová sdělení, včetně abstrakt publikovaných v časopisech s impakt faktorem. Uvedené publikace svědčí o dobré kvalitě odborné práce uchazečky a o splnění publikačních kritérií pro disertační práce na 1. lékařské fakultě University Karlovy.

Cíle práce

V samostatném oddílu v textu své teze autorka definuje a zdůvodňuje cíle práce: 1) Zhodnocení hypotézy o výhodnosti parametrů screeningových protokolů založených na stanovení koncentrace PAP ve druhém analytickém stupni. 2) Zhodnocení senzitivity a specifity IRT/PAP protokolů v závislosti na zvolených cut-off hodnotách pro IRT a PAP. 3) Charakteristiky zastoupení

jednotlivých mutací v genu CFTR v České republice. 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.

Aktuálnost tématu práce

O důležitosti a aktuálnosti autorčina výzkumu není třeba pochybovat, práce má přímý dopad na provádění zdravotní péče v České Republice. Autorka připravila svým výzkumem podklady pro formulování konkrétní podoby screeningového programu pro cystickou fibrosu v České Republice, práce má tedy velký celospolečenský dopad.

Metody použité v rámci disertační práce

Řešení hlavního cíle práce, zhodnocení metod neonatálního screeningu a jejich výhodnosti v podmínkách České republiky, vyžadovalo kromě biochemických a molekulárních laboratorních metod screeningu, komplexní hodnocení laboratorních metod a souborů výsledků. Metody zahrnovaly jak „in-house“ techniky a později i komerční kity. Práce autorky vyžadovala manipulaci s rozsáhlými soubory dat a jejich statistické zhodnocení. Autorka se dále podílela i na práci, která zahrnovala bioinformatickou analýzu polymorfismů na úrovni genomu.

Nové poznatky disertační práce a jejich význam

Nové poznatky práce zahrnují poznání o efektivitě jednotlivých screeningových metod a protokolů a z nich odvozená doporučení týkající se provádění screeningu v ČR. Na základě výsledků studie autorka nedoporučuje změnu současného screeningového protokolu IRT/DNA/IRT na model IRT/PAP. Doporučuje však změnu protokolu IRT/DNA/IRT na schema IRT/PAP/DNA s modifikovanými cut-off hodnotami pro IRT a PAP. Tyto i další poznatky o screeningových metodách a protokolech mají obecnou platnost a mají význam pro screening cystické fibrosy i v dalších populacích. Dále autorka přispěla novými znalostmi k poznání molekulární podstaty cystické fibrosy na našem území a ke znalostem o populační genetice evropských populací.

Otázky oponenta

- 1) Jaká je přijatelný počet konfirmačních vyšetření - kolik je "akceptovatelná" falešná pozitivita pro jednotlivá vyšetření?
- 2) U mekoniového ileu bývají nízké hodnoty IRT - provádí se u všech pacientů s mekoniovým ileem potní test nebo se spoléhá na screeningová vyšetření?
- 3) O F508del, str. 16 je uvedeno : "Ztráta jediné aminokyseliny znemožní správnou posttranslační glykosylaci vedoucí k abnormální terciární konformaci proteinu a jeho následné degradaci v endoplasmatickém retikulu."
Otázka : Jak vede ztráta fenylalaninu k poruše glykosylace na poměrně vzdálených N-glykosylačních místech ?

Závěr

V práci jsem nenašel žádné formální či formulační nedostatky, **doporučuji ji proto k obhajobě.** Předložená práce má velmi dobrou odbornou úroveň, prokazuje že autorka je schopná samostatně vědecky pracovat a řešit komplexní netriviální odborné otázky. Předložené výsledky prošly kritickým hodnocením v impaktovaných časopisech, což svědčí o výborné úrovni její práce a znalostech studovaného oboru.

Disertační práce tedy prokazuje předpoklady autorky k samostatné vědecké práci **a proto doporučuji udělení titulu „Ph.D“ za jménem.**

V Praze 3.9.2014

MUDr Martin Hřebíček