



Ústav biologie a lékařské genetiky 1. LF UK a VFN v Praze

Albertov 4, 128 00 Praha 2

Tel: 2 24967173; Fax: 2 2496 8141

Oponentský posudok

Korelace genotyp-fenotyp u vybraných vzácných onemocnění s využitím analýzy genomových a genových variant

Doktorská dizertační práce

MUDr. Markéta Vičková

Univerzita Karlova v Praze, 2. LF UK a FN Motol, Praha

Školitel: prof. Ing. Zdeněk Sedláček, DrSc.

Univerzita Karlova v Praze, 2. LF UK a FN Motol, Praha

Ústav biologie a lékařské genetiky

Téma dizertačnej práce

Dizertačná práca MUDr. Markéty Vičkovej sa venuje štúdiu genotypu a fenotypu pacientov so vzácnymi geneticky podmienenými ochoreniami, ktoré sú príčinou mentálnej retardácie (MR) často asociovanej s poruchami autistického spektra (PAS). Vzácnne prepojuje odbornosť klinického genetika s molekulárnym genetikom, čo úspešne napomáha ku správnej interpretácii laboratórných nálezov. V úvode svojej práce dokonalým spôsobom nás oboznamuje so spektrom molekulárnych vyšetrení. Predstavuje rozvoj molekulárne-biologických metód, ich vzájomné využitie v praxi. Metódy microarray sa stávajú súčasťou rutínnej diagnostiky príčin MR a PAS na genetických ambulanciách. Veľmi dobrú orientáciu ukazuje v používaní databáz bioinformatických analýz a ich očakávané využitie. V ďalšej kapitole definuje mentálnu retardáciu (MR) a poruchy autistického spektra (PAS), čo sú najčastejšie dôvody vyšetrenia detí v ambulanciách klinickej genetiky. Jadrom práce je porovnávanie genotypu (nálezov získaných práve modernými molekulárne-biologickými metódami) a precízne zhodnoteného fenotypu pacientov. S ohľadom na variabilnú expresivitu génov, často nejasných nálezov variant sa pokúša vniesť logiku do stále zložitejšieho interpretačného záveru. Výsledkom tohoto intenzívneho štúdia je vypracovanie algoritmu pri vyšetovaní pacientov s MR a event. s PAS pre klinickú prax.

V prípade syndrómvej MR molekulárne vyšetrenie potvrdí našu suspekciu a prípad môžeme uzavrieť. MUDr. M.Vičková však vytvorila a úspešne završila diagnostiku a pacientov s MR alebo PAS, ktorých diagnóza bez molekulárnych metód by nebola možná. Táto úspšná práca vznikla aj vďaka špičkovému laboratórnemu zázemiu a medzinárodných multicentrických študií.

Súhrn práce

Po formálnej i obsahovej stránke je dizertačná práca MUDr. Markéty Vičkovej príkladná. V úvode je čitateľ vecne oboznámený so štruktúrnymi variantami chromozómov. Rozvoj arrayových metód odhalil veľkú variabilitu ľudského genómu a rozpoznal a definoval mnohé mikrolečné/mikroduplikačné syndrómy. Podrobne a prehľadne uvádza metódy analýzy variability genómu od klasickej karyotypizácie až po sekvenovanie novej generácie.

Jasne sú definované hlavné témy a ciele práce: 1) nájsť genomové a genové varianty u pacientov s MR a PAS 2) analyzovať genotyp a fenotyp u týchto pacientov a prispieť tak k poznatkom o génoch a detekovaných variantách 3) hľadať pravdepodobný mechanizmus vzniku aberácií 4) potvrdiť kauzalitu ochorení u publikovaných prípadov, ale nepodložených dostatočným počtom pacientov 5) optimalizovať vyšetrovacie schéma u pacientov s MR a PAS 6) ukázať možnosti a limity využitia celogenomových sond a ich využitie v praxi (genetické poradenstvo, IS, zdelovanie výsledkov, neistota v interpretácii nálezov)

Ciele práce boli jednoznačne definované a splnené vo všetkých oblastiach. MUDr. Markéta Vičková vzácnne v jednej osobe prepojila klinického a molekulárneho genetika. Veľmi precízna fenotypová charakteristika pacientov spolu s kombinovaním techník molekulárnej analýzy umožnila identifikovať gény v sledovanej oblasti a upresniť roľu deletovaných/duplikovaných génov. Prínosné v rámci publikácií sú prehľadné tabuľky s porovnávaním fenotypu, fotografie pacientov, schémy deletovaných regiónov.

Celkový rozsah práce je 177 strán, 12 priložených prác bolo publikovaných v medzinárodných odborných časopisoch s vysokým impact faktorom. V 3 publikáciách (publikácia 2,6,10) je autorka uvedená na prvom mieste. Veľmi pozitívne je zhrnutie obsahu každého publikovaného článku. Literárny prehľad obsahuje 99 citácií a je vyčerpávajúci.

Výsledky práce

Autorka dokumentuje radu prioritných pozorovaní. Ako klinický a molekulárny genetik dokumentuje kauzistiky detí s MR a PAS, u ktorých boli potvrdené genetické príčiny pomocou molekulárnej diagnostiky. V niektorých raritných prípadoch k prispieva k podrobnejšej subklasifikácii mikrolečných syndrómov. Hľadá funkciu „stratených génov“ u nových mikrolečných syndrómov.

Definuje na základe detailného fenotypu potencionalne nové mikrolečné syndrómy (mikrolecie 2p14-p15) v práci č. 5. V rámci medzinárodnej spolupráce je spoluautorkou publikácie 9, ktorá sleduje na bunečnej úrovni dosledky mutácie génu HCFC1 pre vývoj mozgu v embryonálnom období. Publikácia č. 10 sa venuje vzácnym dysmorfickým monogénovým syndrómom spôsobených mutáciami génu KAT6B. Táto práca podporila predpoklad, že mutácie KAT6B sú príčinou dvoch samostatných syndrómom, tak ako ich definovali v minulosti syndromológovia. V publikácii č. 6 na sa zaoberá genotypovými odlišnosťami u monozygotných dvojčiat s mikroleciou na 17q s mierne odlišným fenotypom a možným vysvetlením klinickej variability. Zároveň sa zaoberá s genotypovými odlišnosťami u monozygotných dvojčiat.

Práca je z pohľadu genetiky nová, zaujímavá, prínosná a téma vysoko aktuálne.

Prezentované publikované práce prešli náročným oponentským riadením, sú príkladne dokumentované. Práce sú už často citované, čo svedčí o ich vysokej aktuálnosti.

Komentár, dotazy:

Prehľad o nových metódach analýzy genomu, indikácie k jednotlivým molekulárnym vyšetreniam v práci uvádzaný je prehľadný. Myslím, že by si zaslúžil samostatnú publikáciu event. Návod na stránkách Společnosti lékařské genetiky a genomiky ako praktické vodítko pre klinických genetikov.

S pokorou hľadíme na explóziu poznatkov v oblasti molekulárnej genetiky. Objav nových génov, nových genetických syndrómov vyvoláva v nás určitú nostalgiu na časy minulé. Moja otázka smeruje na Vás, čo si myslíte o ďalšom rozvoji klinickej genetiky a jej výhľadu do budúcnosti? Rozvoj molekulárných metód, sekvenovanie genómu neznamena súmrak nad klinickou syndromológiou?

Záver:

Dizertačná práca MUDr. Markéty Vičkovéj prináša originálne poznatky nielen v českom, ale i v medzinárodnom kontexte.

MUDr. Markéta Vičková (v smysle zákona o vysokých školách č. 111/1998 Sb.) splnila všetky zákonom dané povinnosti, a preto doporučujem prácu prijať v predkladanej forme ako podklad pre udelenie titulu „PhD“ za menom.

V Prahe dňa 4.9.2016

Doc.MUDr.Alice Baxová,CSc

ÚBLG 1.LF a VFN UK