

Oponentský posudek disertační práce

Název disertační práce: Role sekvenace nové generace v diagnostice a prognóze X-vázaných lysosomálních strádavých onemocnění

Autor: Mgr. Martin Řeboun

Oponent: doc. RNDr. Lenka Fajkusová, CSc.

Cílem disertační práce Mgr. Martina Řebouna byla problematika molekulárně genetické diagnostiky X-vázaných lysosomálních onemocnění, konkrétně Danonovy nemoci (gen *LAMP2*), Fabryho nemoci (gen *GLA*) a mukopolysacharydózy II (gen *IDS*).

Cíle, výsledky i diskuze disertační práce jsou členěny do tří částí. První část je věnována zavedení metod NGS pro diagnostiku X-vázaných lysosomálních onemocnění. Druhá část je zaměřena na využití metod NGS pro analýzu somatického mozaicismu a sestřihových variant u pacientů s X-vázanými lysosomálními onemocněními. Součástí studie bylo i provedení korelace genotypu-fenotypu u 38 pacientů s mukopolysacharidózou II. Kromě jiných nálezů byla identifikována sestřihová varianta v genu *IDS* a provedena její charakterizace na úrovni sekvenace RNA s vysokým pokrytím. Sekvenace DNA s vysokým pokrytím byla použita pro vyšetření somatického event. postzygotického mozaicismu u pacientů s Danonovou nemocí. V rámci studie byl identifikován somatický mozaicismus u pacienta s Danonovou nemocí. Vzhledem k tomu, že somatický mozaicismus u Danonovy nemoci byl doposud publikován výhradně u žen, jde o unikátní nález.

Třetí část disertační práce je věnována využití metod NGS pro analýzu transkripčních variant a studiu X-inaktivace u pacientů s X-vázanými lysosomálními onemocněními. Unikátním nálezem této části je pacientka s mukopolysacharidózou II. Manifestace mukopolysacharidózy II u žen je velmi vzácná. Jako příčina manifestace onemocnění u pacientky byla identifikována výhradní exprese mutované alely způsobená kompletním zešikmením X-inaktivace. Téma zešikmení X-inaktivace je řešeno i v rámci analýzy 35 pacientek s Fabryho nemocí a různou tíží klinických projevů. V algoritmu vyšetření a interpretace výsledků byla použita analýza X-inaktivace využívající kromě standardních metod založených na analýze metylace DNA i identifikace alelově specifické exprese metodami NGS.

Disertační práce je klasicky členěná na Úvod, Cíle, Metody, Výsledky, Diskuzi, Závěr, následuje Seznam publikací. Mgr. Martin Řeboun je hlavním autorem dvou prací publikovaných v *Journal of Medical Genetics* a *Folia Biologica* a dále je spoluautorem 3 publikací, které jsou podkladem disertační práce a 6 publikací bez vztahu k tématu disertační práce.

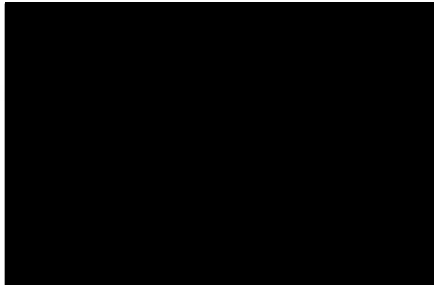
Celkově je možné výsledky disertační práce hodnotit jako velmi zdařilé. Mgr. Řeboun ukázal znalost aplikace současným molekulárně genetickým přístupů používaných v diagnostice geneticky podmíněných onemocnění a poradil si i s interpretací výsledků. Jako za zvlášť přínosnou považují část disertační práce zabývající se inaktivací chromozomu X a korelací zešikmení X-inaktivace a závažnosti klinických příznaků jednotlivých X-vázaných onemocnění. Myslím, že tento přístup je spíše výjimkou

v současné diagnostické praxi, a ačkoliv je to oblast metodicky i interpretačně komplikovaná, je třeba ji brát v úvahu při klasifikaci klinických příznaků onemocnění a výsledků dalších vyšetřovacích metod.

Disertační práce Mgr. Martina Řebouna jasně prokazuje předpoklady autora k samostatné tvořivé vědecké práci a k udělení titulu „Ph.D.“ za jménem.

V Brně dne 10. 8. 2022

Lenka Fajkusová



Dotazy k disertační práci:

1. Na straně 54 uvádíte, že celkově bylo vyšetřeno 539 pacientů s podezřením na metabolické, kardiologické a skeletální onemocnění. Geneticky diagnóza byla následně potvrzena u 228 z nich. Zajímalo by mě, jaké je procento pozitivních záchytů ve skupině pacientů s nejasným klinickým a/nebo laboratorním nálezem, kteří přišli na genetické vyšetření z důvodu diferenciální diagnostiky?
2. Máte nějaké vysvětlení, že v případě varianty c.1024C>T p.Arg342* nebyla detekována degradace transkriptu procesem *nonsense mediated mRNA decay*, na rozdíl od dalších nulových variant v genu *GLA*?