

## OPONENTSKÝ POSUDEK DISERTAČNÍ PRÁCE

**Uchazeč:** Mgr. Martin **Řehoun**

**Disertační práce:** **Role sekvenace nové generace v diagnostice a prognóze X-vázaných lysosomálních strádavých onemocnění.**

Doktorské studijní programy v biomedicině, Univerzita Karlova a Akademie věd České republiky, obor: Molekulární a buněčná biologie, genetika a virologie

**Školitel:** RNDr. Lenka Dvořáková, CSc.

**Konzultant:** Doc. MUDr. Martin Magner, Ph.D.

**Školící pracoviště:** Klinika pediatrie a dědičných chorob metabolismu, Sekvenační centrum Diagnostických laboratoří DPM

**Oponent:** prof. MUDr. Jan Krejčí, Ph.D.  
I. Interní kardiologická klinika, Lékařská fakulta  
Masarykovy univerzity a Fakultní nemocnice u sv. Anny  
v Brně

## **TEXT POSUDKU**

Předložená dizertační práce je napsána v celkovém rozsahu 109 stran bez příloh, je rozdělena do 5 hlavních kapitol. Vstupní částí je velmi detailně rozpracovaný teoretický úvod, který mimo fundovaného přehledu genetických aspektů problematiky popisuje i charakteristiky, klinické projevy, diagnostické přístupy a léčebné možnosti tří X-vázaných onemocnění, na které se autor zaměřil – Fabryho nemoci, mukopolysacharidózy typu II a Danonovy nemoci. Rozebírá princip X-inaktivace a metody jeho stanovení. V další kapitole charakterizuje 3 hlavní cíle dizertace včetně řady dílčích cílů, následuje pečlivě popsany přehled metodik užitých v této studii. Rozsáhlá výsledková část zahrnuje také množství ilustrativních grafů a obrázků, a dále klinickou část s popisem jednotlivých studovaných případů. Součástí jednotlivých výsledkových podkapitol je diskuze k dané problematice, kdy autor se zřetelnou erudicí konfrontuje získaná data s řadou publikací včetně rozboru případných diskrepantních či naopak konkordantních nálezů.

Závěr naopak velmi přehledně a srozumitelně shrnuje odpovědi na jednotlivé cíle včetně jejich praktických konsekvencí.

Práce jako taková obsahuje 23 obrázků či grafů, 20 tabulek, rozsáhlý seznam citované literatury. Příloha obsahuje mimo jiné publikační aktivitu aspiranta a další obrazovanou dokumentaci.

### **I. Aktuálnost zvoleného tématu práce**

Vzhledem k obrovskému rozvoji poznání genetického pozadí řady vzácných onemocnění a současně se dramaticky zvyšující dostupnosti řady genetických diagnostických metod je předkládaná práce mimořádně aktuální a přínosná.

### **II. Metodika zpracování**

Práce je po formální i obsahové stránce velmi dobře zpracována. Rozsah spisu je přiměřený zvolenému tématu a je doprovázen přehlednými tabulkami, grafy i vlastní obrazovou dokumentací. Uvedené pracovní metody včetně statistických analýz shledávám jako přiměřeně zvolené a aplikované. Rozsáhlý seznam citací ukazuje na výbornou orientaci v tématice.

### **III. Výsledky dizertační práce**

Výsledky dizertační práce jsou rozděleny dle jednotlivých cílů. Prvním cílem bylo

zavedení metod NGS a zhodnocení jejich přínosu pro diagnostiku X-vázaných lysosomálních onemocnění. Zde bylo prokázáno, že prostřednictvím cíleného panelového sekvenování s použitím hybridizačních práb jsou dobře pokryté všechny důležité oblasti, ve kterých se mohou nacházet mutace a je vhodnou metodou k diagnostice SNV i stanovení přítomnosti CNV u těchto onemocnění. Druhým cílem bylo využití metod NGS pro analýzu somatického mozaicismu a sestřihových variant u pacientů s X-vázanými lysosomálními onemocněními. Výsledky této práce shrnují možnosti predikce závažnosti projevů MPS II za využití hlubokého amplikonového sekvenování, dále popisují genetickou analýzu somatického mozaicismu a XCI u Danonovy choroby a 1 pacientky s MPS II a podtrhují důležitost znalosti stavu X-inaktivace. Komplexní analýzu X-inaktivace u žen s Fabryho nemocí pak popisují výsledky třetího oddílu.

Souhrnně lze konstatovat, že výsledky dizertace prokázaly přínosnost sekvenování nové generace pro diagnostiku X-vázaných lysosomálních onemocnění, vedly k objasnění molekulárního podkladu fenotypových projevů těchto onemocnění a v některých případech přispěly k přesnější prognostické stratifikaci.

#### **IV. Splnění cílů, přínos práce pro společenskou praxi a další rozvoj vědy**

Výsledky dizertační práce přinesly odpovědi na definované cíle, potvrdily navržené hypotézy a byly podkladem pěti publikací v časopisech s impakt faktorem. Dizertace současně pomohla definovat roli řady metodik i mimo rámec zkoumaného tématu, což opět přineslo další publikační, vědecké i praktické výstupy. Uchazeč prokázal velmi dobré znalosti celé problematiky. Zpracování práce přesvědčivě dokumentuje vědecko-výzkumné a tvůrčí schopnosti autora, stejně jako pečlivé vedení a zkušenosti školitele.

Přínosem dizertační práce jsou jak výsledky, které mohou být aplikovány v běžné praxi, tak i perspektivní směry dalšího výzkumu.

#### **V. Otázky**

1. Enzymologické vyšetření pacientek s Fabryho chorobou není vhodnou diagnostickou metodou s ohledem na to, že hodnoty enzymu GLA se často překrývají s hodnotami u zdravé populace, proto je zpravidla primárně indikováno genetické vyšetření. V práci je však zmíněna limitace metod využívajících nepřímé sondy jevem crossing – over. Detekce tohoto jevu pomocí analýzy exprese GLA není možná u pacientek s mutacemi ovlivňujícími stabilitu mRNA. Jaká metodika může být využita v tomto případě?

2. Jak si vysvětlujete, že výsledek stanovení XCI může být ovlivněn typem tkáně, ve které jsou analýzy prováděny? Kterou tkáň lze považovat za nejvhodnější pro tuto analýzu?

#### **VI. Doporučení k obhajobě**

Mgr. Martin ~~Řeboun~~ jasně prokázal vědecko-výzkumné tvůrčí schopnosti a předkládaná práce jednoznačně splňuje požadavky kladené na dizertaci v daném oboru. Na základě výše uvedeného doporučuji dizertační práci "Role sekvenace nové generace v diagnostice a prognóze X-vázaných lysosomálních strádavých onemocnění" výše jmenovaného k obhajobě, a po úspěšné obhajobě doporučuji udělení titulu Ph.D. ve smyslu § 47 Zákona o vysokých školách č. 111/98 Sb.

V Brně dne 2.8. 2022

prof. MUDr. Jan Krejčí, Ph.D.

1. interní kardiologická klinika

Lékařská fakulta Masarykovy univerzity a Fakultní nemocnice u sv. Anny v Brně

