

Oponentský posudek disertační práce

Název disertační práce: Analýza genomických variant u pacientů s neurovývojovým onemocněním se zaměřením na epilepsie

Autor: Ing. Hana Zůnová

Oponent: doc. RNDr. Lenka Fajkusová, CSc.

Cílem disertační práce Ing. Hany Zůnové byla genetická problematika epilepsií, a to jak epilepsií v izolované formě tak epilepsií v kombinaci s neurovývojovými onemocněními či vrozenými vývojovými vadami. Autorka prezentuje soubor 400 pacientů, u nichž bylo provedeno celogenomové vyšetření zaměřené na detekci rozsáhlých delecí/duplikací, tj. variant v počtu kopií (CNV).

Metodický přístup byl založený na využití celogenomové analýzy metodou komparativní genomové hybridizace na čipech (aCGH) pomocí komerčních platform SurePrint G3 CGH ISCA v2 8x60K a SurePrint CGH ISCA v2 4x180K (Agilent Technologies). V rámci disertační práce bylo rovněž provedeno navržení a následné úspěšné testování vlastní „custom aCGH“ platformy, která umožňuje detekci CNV jednotlivých exonů genů asociovaných s rozvojem epileptického fenotypu a tato platforma může být tedy použita pro ověřování CNV detekovaných metodami masivní paralelní sekvenace.

V analyzované kohortě 400 pacientů bylo celkem detekováno 2730 CNV z nichž 82 bylo vyhodnoceno jako potenciálně asociovaných s fenotypem pacienta. S využitím současného klasifikačního systému bylo 21 CNV uzavřeno jako patogenní, 12 CNV jako pravděpodobně patogenní, 39 CNV jako varianta nejasného klinického významu a 10 CNV jako varianta s vysokou frekvencí a nízkou penetrancí. Kromě rekurentních CNV a CNV v oblastech známých epileptických „hot-spotů“ byly detekovány také nerekurentní CNV v oblastech genomu, které nejsou v současné době s epilepsiemi spojovány. Jako velmi přínosnou považuji i část disertační práce zabývající se spolupůsobení několika aberací v rámci tzv. „second-hit“ modelu. „Second-hit“ model byl jako možná příčina rozvoje onemocnění označen ve 12 případech. V šesti případech se jednalo o kombinaci dvou či více CNV. U zbylých šesti pacientů byla nalezena kromě CNV také bodová patogenní varianta.

Téma disertační práce Ing. Zůnové se týká velmi aktuální problematiky geneticky podmíněných epilepsií a epileptických syndromů. V průběhu práce byl optimalizován diagnostický algoritmus založený na kombinaci metod aCGH a masivní paralelní sekvenace, který přispívá k zefektivnění genetické diagnostiky uvedených onemocnění. Disertační práce přináší řadu nových poznatků týkajících se interpretace detekovaných CNV a rovněž korelací jednotlivých genetických nálezů s fenotypem pacienta.

Ing. Hana Zůnová předložila obsáhlou disertační práci členěnou na Úvod, Materiál a Metody, Výsledky a Diskuzi, Závěr, ve které pojednává o jednotlivých genetických nálezech včetně podrobného rozboru jejich klasifikace a vztahu s onemocněním pacienta. Je zřejmé, že klasifikace variant je složitý postup, který ne vždy přináší očekávaný výsledek. Rozšiřování souboru pacientů a detekovaných variant, i za

cenu detekce variant nejasného významu, je ale velmi přínosné a „reanalýza“ těchto variant s odstupem času je nezbytným krokem, který může na základě nových poznatků, přispět k objasnění genetických příčin analyzovaných onemocnění.

Ing Hana Zůnová je první autorkou práce publikované v časopise *The American Journal of Medical Genetics - Part A* (IF 2.578) a spoluautorkou dvou prací publikovaných v časopisech *Neurology Genetics* a *Neuropediatrics*, které se rovněž vztahují k řešené problematice. Celkově je možné výsledky disertační práce hodnotit jako výborné (zvláště s ohledem k počtu analyzovaných pacientů a množství práce spojené s interpretací genetických nálezů).

Předložená práce splňuje nároky kladené na disertační práci a prokazuje předpoklady Ing. Zůnové k samostatné vědecké práci. Disertační práci doporučuji k obhajobě a udělení titulu Ph.D. její autorce.

V Brně dne 5. 6. 2023

Lenka Fajkusová

Dotazy k disertační práci:

1. Jaký by měl být dle Vašeho názoru správný postup při genetické diagnostice epilepsií a epileptických syndromů.
2. Prezentujete soubor 400 pacientů, u části z nich se podařilo objasnit příčinu epilepsie záchytem kauzálních CNV. Můžete uvést, jak pokračovala genetická diagnostika u pacientů s negativním výsledkem. U kolika z nich byla identifikována patogenní/pravděpodobně patogenní varianta dalšími metodickými přístupy.