

## **Oponentský posudek disertační práce :**

**RNDr. Martina Putzová**

### **Využití fluorescenční polymerázové a zové reakce v asné prenatalní diagnostice aneuploidií autozomů a heterochromozomů**

Předložená disertační práce se zabývá problematikou využití vysoce polymorfních markerů (krátkých tandemových repetitivních - STR) k diagnostice nejzávažnějších chromosomálních aneuploidií metodou kvantitativní fluorescenční polymerázové a zové reakce (QF-PCR). Tématika je aktuální z hlediska aplikace této metody v klinické praxi zejména k rychlé diagnostice chromosomálních aneuploidií v rámci prenatalní diagnostiky.

Zpracování práce je možné hodnotit jako komentovaný soubor tří publikací uveřejněných v časopisech s IF, ve kterých je RNDr. Putzová dvakrát prvním autorem. Kromě toho byly výsledky této práce publikovány v zahraničních časopisech bez IF a formou přednášek na několika tuzemských konferencích. Práce je tradičně členěna na úvod, cíle práce, metody, výsledky a diskusi s odkazy na uvedené publikace. Autorka přehledně definuje cíle své práce, ve kterých lze kromě jiného vyzdvihnout zejména možnosti uplatnění metody QF-PCR s použitím STR markerů vybraných na základě zjištěných heterozygotů v české populaci.

V úvodu práce jsou poskytnuty souhrnné informace o sekvencích DNA v lidském genomu a jejich detekci, je podán přehled nejzávažnějších chromosomálních aneuploidií (chromosom 21, 18, 13, X a Y) a možností jejich diagnostiky. Zmíněna je i možnost určení parentálního původu nadpočetných chromosomů, období meiózy, ve kterém došlo k nondisjunkci nebo k výskytu mitotické nondisjunkce.

K této části práce mám jednu otázku: na straně 29 je citována práce Mann et al. 2001, která dokládá možnost detekce mozaikové formy trizomie metodou QF-PCR. Jak můžete nondisjunkce v prvním meiotickém dělení vést k mozaikové formě trizomie, jak je uváděno v textu?

Autorka pracuje s rozsáhlým souborem vzorků (7 200) zpracovaných v rámci prenatalního i postnatalního vyšetření. Vytváří vlastní nový diagnostický soubor markerů STR a ověřuje jeho informativitu při vyšetření a souhrnně vlastní soubor nadstavbových markerů, který slouží k ověření patologických nálezů a dovyšetření v případech neinformativity základních markerů. Materiál a metody jsou výstižně popsány, výsledky jsou dokumentovány přehlednými tabulkami a obrázky což umožňuje dobrou orientaci v materiálu. V závěru autorka diskutuje získané výsledky v souvislosti s výsledky zahraničních prací.

K formálnímu zpracování textu mám několik připomínek :

- v práci se vyskytuje několik nepodstatných překlepů
- na straně 32 je uvedeno, že soubor tvořilo 7 200 vzorků, zpracováno však bylo 6 349, pro nebyly zpracovány i ostatní vzorky ?
- na straně 37 nesouhlasí zcela čísla uváděná v textu s tabulkou 2 (130/142 CHAs, 42/48 CHAs)

Uvedené připomínky však nijak nesnižují kvalitu předložené práce.

Závěrem lze říci, že mezi významné výsledky této práce patří vytvoření nového souboru markerů STR, vysoce informativního pro českou populaci, dále potvrzení, že zvoleným souborem markerů a zvolenou metodou lze identifikovat až 90 % chromosomálních aberací. Práce ověřila i použitelnost QF-PCR testu zaměřeného pouze na analýzu chromosomu 21 jako součást screeningu Downova syndromu v druhém trimestru těhotenství a účinnost nadstavbového souboru markerů pro jednotlivé chromosomy.

Autorce bych ráda položila následující otázky:

- 1) Na straně 27 autorka uvádí, že evolučně konzervovaný gen pro amelogenin se vyskytuje na X i Y chromosomu, na chromosomu Y však ve formě pseudogenu s mnoha delecemi. Lze proto k diagnostice pohlavních chromosomů využít marker AMXY. Ten byl také použit v novém diagnostickém souboru markerů (tab. 3) (v tab. 1 je uveden marker AMEL). To je v rozporu s údaji na straně 47, kde se uvádí použití markeru, který mapuje delecii na chromosomu X (delece 6 párů bazí) a na straně 48 AMXY marker budí dojem, že se jedná o jiný marker. Můžete objasnit problematiku markeru(ů) amelogeninového genu?
- 2) V souvislosti s analýzou Downova syndromu byla vytipována oblast na chromosomu 21, která je zodpovědná za jeho vznik (21q22.3). Jak pokračovalo poznání v této oblasti, jsou známy geny, jejichž nadbytečné množství způsobuje vznik tohoto onemocnění?

### **Závěr:**

RNDr. Martina Putzová prokázala schopnost samostatné vědecké práce, schopnost definovat problém a cíl jehož má být dosaženo, analyzovat získané výsledky a diskutovat je v kontextu již publikovaných údajů. Autorka předložila doktorskou disertační práci, která je aktuální, přináší nové poznatky použitelné v klinické praxi a samostatně se podílela na jejich praktickém provedení. Vzhledem k uvedeným skutečnostem lze konstatovat, že předložená

dizertační práce splňuje podmínky k udělení titulu Ph.D. a doporučuji proto, aby byla přijata jako podklad pro udělení vdecké hodnosti Ph.D.

V Praze dne 8. března 2009

Doc. MUDr. Milada Kohoutová, CSc.  
Ústav biologie a lékařské genetiky 1. LF UK a VFN  
Albertov 4, 128 00 Praha 2