

Oponentský posudok
na dizertáciu prácu Mgr. Alžbety Vážnej:
„Asociácia štúdiá s génom ADA a detailná charakterizácia dvoch chromozomálnych
prestavieb u autizmu“
Praha 2009

Napriek mimoriadnemu úsiliu, venovanému v posledných rokoch štúdiu genetickej determinácie autizmu, zostáva toto ochorenie naďalej genetickou záhadou. Každý príspevok k objasneniu jeho genetickej podmienenosti je cenný.

Posudzovaná dizertácia práca Mgr. Alžbety Vážnej predstavuje takýto príspevok. Jej všeobecným cieľom, ako hovorí autorka v príslušnej kapitole, bolo prispieť k objasneniu úlohy genetiky u tohto ochorenia. Konkrétnymi cieľmi práce bolo jednak vykonať štúdiu asociácie autizmu s polymorfnými variantmi génu *ADA*, jednak detailne molekulárno-geneticky charakterizovať oblasti chromozomálnych zlomov u dvoch autistických pacientov, u ktorých sa našli štruktúrne chromozómové aberácie, a interpretovať možné dôsledky nájdených molekulárnych defektov v oblasti chromozómových zlomov na ich fenotyp.

Rád konštatujem, že všetky tieto ciele autorka v plnom rozsahu splnila. Pritom použila laboratórne a bioinformatické metódy, ktoré vyžadujú nielen primerané technické vybavenie, ale aj dôkladné teoretické znalosti a laboratórnu zručnosť.

Asociácia štúdiá s variantmi génu *ADA* sa robila na súbore pacientov s autizmom (alebo s autistickými formami) impozantného rozsahu – takmer 400 jedincov, plus 130 DNA vzoriek kontrolného súboru. Štúdiá bola iniciovaná v období, keď v literatúre prevládala domnienka o existencii signifikantnej asociácie medzi autizmom a *ADA*-variantmi, vyvolaná nedávnymi publikáciami talianskych autorov, no skôr, než vyšla analogická práca zo severoamerickej populácie, ktorá túto domnienku nepotvrdila, pretože žiadnu asociáciu nenašla. Nenašla ju ani autorka posudzovanej dizertácie, pričom obojstranný vyšetrený súbor svojím rozsahom násobkovo prevyšuje rozsah doteraz analyzovaných súborov. Asociácia sa nenašla ani medzi *ADA*-polymorfizmom a niektorou z diagnostických podmnožín analyzovaného súboru pacientov. Hoci ide o replikáciu už publikovaného nálezu chýbajúcej asociácie, zaslúži si publikovanie už vzhľadom na to, že materiál, spracovaný autorkou je podstatne rozsiahlejší ako materiál, analyzovaný v doterajších publikáciách.

Podkladom pre druhú časť práce boli dvaja autistickí pacienti, u ktorých sa našli štruktúrne chromozómové aberácie: u jednej prstencový chromozóm 17, u druhej delécia Xp. Postihnuté oblasti týchto chromozómov doktorandka veľmi detailne preskúmala modernými molekulárno-genetickými a bioinformatickými postupmi, čo jej umožnilo vysloviť kvalifikované domnienky o možnej úasti aberáciami postihnutých (napr. deletovaných) génov a iných sekvencií na fenotype autizmu. Ide o celkom nové vedecké poznatky, a nie je preto prekvapujúce, že sa stali podkladom pre publikácie v kvalitných vedeckých časopisoch (jedna už publikovaná, druhá t. . . v oponentskom pokračovaní).

O aktuálnosti témy posudzovanej dizertácie azda najlepšie svedí skutočnosť, že od odovzdania dizertácie dodnes – teda v intervale púhych cca 3 týždňov - vyšli dve zásadné publikácie o genetických aspektoch autizmu: Weiss et al., *Nature* 461, 802-808, 2009 a Sykes et al., *EJHG* 17, 1347-1353, 2009, ktoré autorka pri písaní práce ešte nepoznala. Prvá z nich, v ktorej bol vykonaný celogenómový skrining vyše 500 000 DNA polymorfizmov na paneli viac ako 1500 pacientov odhalila jedinú signifikantnú asociáciu, a to so SNP na 5p15, v tesnej blízkosti génu pre semaforín *SEMA5A*, ktorý sa zdá byť jedným z génov podmieňujúcich susceptibilitu k autizmu. Nepochybujem, že autorka a kolektív, s ktorým spolupracovala, urýchlene overia túto asociáciu na svojom súbore pacientov. Budem im držať palce, aby sa nestalo to, čo autorka v práci veľmi výstižne formulovala na str. 66 dolu: „Veľmi často sa vzápätí po tom, čo sa v nejakej kohorte pacientov objaví významný nález, nepodarí tento nález v inej skupine replikovať“...

Pokiaľ ide o formálne spracovanie dizertácie, rád konštatujem, že je na vysokej úrovni. Text je písaný jasne a zrozumiteľne, a jednoznačne dokumentuje nielen autorkinými vynikajúcimi prehľadmi o spracovanej problematike, ale aj schopnosťou presne formulovať myšlienky.

Zo štyroch doterajších autorkiných publikácií sú dve založené priamo na výsledkoch posudzovanej dizertácie, ďalšie dve s ňou súvisia voľnejšie; jedna je zatiaľ len v oponentskom pokračovaní. Všetky boli publikované v renomovaných časopisoch so solídnym impaktom. Keďže prešli úspešne peer-review pokračovaním, nebudem ich hodnotiť.

Žiadne nedostatky alebo sporné body, ktoré by stáli za zmienku, som v práci nenašiel. Azda by sa dalo polemizovať s autorkiným hodnotením rozporu medzi nálezmi autorov, z ktorých časť našla, ďalšia časť nenašla signifikantnú asociáciu medzi polymorfizmom *ADA* génu a autistickým fenotypom (str. 64 a alej). Prvé dva autorkou

uvedené dôvody tento rozpor sotva môžu vysvetliť – ale polemika na túto tému by bola len akademická a nestála by za stratu času.

Záverom konštatujem, že posudzovaná dizertácia Mgr. Alžbety Vážnej predstavuje vedecké dielo, ktorého podstatné časti boli (alebo onedlho budú) publikované v kvalitných periodikách a predstavujú významný prínos v problematike objasňovania genetickej podmienenosti autizmu. Práca je spracovaná na výbornej úrovni a dokumentuje autorkin rozbeh v problematike, zorientovanosť v náročných molekulárno-genetických a bioinformatických metódach ako aj jej schopnosť formulovať a riešiť vedecké problémy. Podľa môjho presvedčenia spĺňa všetky požiadavky, kladené nielen príslušnými vyhláškami, ale aj vedeckou komunitou na doktorandské dizertačné práce. Preto jednoznačne odporúčam prácu prijať a na základe jej obhajoby doktorandke udeliť titul PhD v odbore *Molekulárna a bunková biológia, genetika a virológia*.

Bratislava, 16.10.2009

Doc. RNDr. Vladimír Ferák, CSc.