



**Ústav biologie a lékařské genetiky  
Všeobecné fakultní nemocnice a 1. LF UK v Praze**

Přednosta Doc. MUDr. M. Kohoutová, CSc.  
121 11 Praha 2, Ke Karlovu 2

**Tel.2 2496 7171,2 2496 7175, E-mail: [genetika@vfn.cz](mailto:genetika@vfn.cz)**

**OPONENTSKÝ POSUDOK DOKTORANDSKEJ DIZERTAČNEJ PRÁCE V OBORE**  
Molekulární a buněčná biologie, genetika a virologie

**Mgr. Zuzana Mušová: Molekulárně genetická analýza syndromu fragilního chromozomu X  
a myotonické dystrofie**

Universita Karlova v Praze, 2. lékařská fakulta, Ústav biologie a lékařské genetiky

**Súhrn práce**

Predkladaná dizertačná práca **Mgr.Zuzany Mušovej** bola spracovávaná v rokoch 2001 - 2010 pod vedením prof. Ing. Zdeňka Sedláčka, DrSc. v Laboratóriu lékařské molekulární genetiky ÚBLG UK 2.LF FN Motol. Výsledky prezentované a diskutované v tejto práci vznikali priebežne s podporou výskumného zámeru MZ ČR MZOFNM2005

Základné technické údaje o predkladanej dizertačnej práci:

- Vlastná práca sa skladá z 22 stran úvodu, 65 stran vlastného textu, doplňujúcich tabuliek a obrázkov a z 2 strán príloh, v ktorých je doložená publikačná aktivita autorky týkajúca sa daného tématu.
- Autorka dokladá svoju niekoľkoročnú prácu celkovo 13 publikáciami, z toho 2 publikáciami, kde je uvedená ako prvý autor. 5 publikácií sa priamo vzťahuje k téme práce v časopisoch s IF, ostatné publikácie sú na témy s volnejším vzťahom k tématu. U každej publikácie uvádza IF.

V dizertačnej práci úvodom autorka otvára prehľad vzácnych genetických ochorení podmienených expanziou repetitívnych sekvencií v genomovej DNA, o mechanizmu vzniku, o nestabilite sekvencií a zákonitostiach intergeneračného prenosu alieli.

V ďalšej časti sa venuje Syndrómu fragilného X-chromozómu (ďalej FXS), ktorý je častou príčinou mentálnej retardácie. Vysvetľuje termíny premutácie a plnej mutácie a pôsobenie proteinového produktu v CNS. Venuje sa klinickým symptómom FXS u detí a dospelých a charakteristickému behaviorálnemu profilu, ktorý často vedie klinikov k podozreniu z FXS. Rozsiahla časť práce je venovaná možnostiam postnatálnej aj prenatálnej molekulárne- genetickej diagnostiky u pacientov s FXS.

Ďalšími ochoreniami, ktorým sa autorka venuje podrobne je Myotonická dystrofia typ 1 a typ 2 (ďalej DM1 a DM2). Predstavujú multisystémové ochorenia s dominantným typom dedičnosti a veľmi variabilným klinickým obrazom. Okrem výraznej variability symptómov (očné, endokrinologické, kardiálne, neurologické), typickým prejavom býva mytonia. Vek manifestácie je rôzny, spravidla v dospelom veku. Najzávažnejšia podoba DM1 je kongenitána forma, ktorá patrí do dif. diagnostiky závažných hypotonických syndrómov v novorodeneckom veku. Samostatnú kapitolu venuje autorka možnostiam molekulárnej genetickej diagnostiky DM1 a DM2.

Osobitne by som chcela v tejto časti dizertačnej práce oceniť prehľadnosť a názornosť, s akou je spracovaný text týkajúci sa složitých mechanizmov vzniku a prenosu expandovaných repetícií v genomovej DNA a ich fenotypový dopad.



**Ciele práce** sú realisticky navrhnuté a jednoznačne definované a sú zamerané predovšetkým na zavedenie a optimalizovanie spektra molekulárne genetických metód pre prax. Snaha použiť výsledky výskumu čo najrýchlejšie a najefektívnejšie do každodennej diagnostickej praxe. Jeden z dôležitých cieľov bolo na základe skúseností vytvorenie algoritmu molekulárne genetických vyšetrení a popis zaujímavých kazuistik. Cenným prínosom je snaha o koreláciu genotypu a fenotypu vyšetrených pacientov.

**Metodika** zahrňuje soubor 1880 pacientov alebo rodinných príslušníkov s podozrením na FXS a 675 pacientov a rodín s podozrením na myotonickú dystrofiu. Svojím rozsahom sa jedná o obrovský súbor vyšetrených probandov. Všetci boli vyšetrení na expanziu repetície CGG v géne FMR1 a expanziu repetície CTG v géne DMPK u DM 1 a expanziu repetície CCTG v géne ZNF9 u DM2. Metódy použité pre realizáciu cieľov práce sú podrobne uvedené a pre detekciu expanzií autorka optimalizuje postup a zavádza nové metódy. Metodické zázemie svedčí o tom, že Mgr.Z.Mušová se v priebehu riešenia dizertačnej práce mohla oprieť o dobré laboratorné zázemie.

**Výsledková a diskusná** časť odráža súčasné možnosti klinického a molekulárne genetického sledovania 3 závažných geneticky podmienených chorôb, ktoré sú spôsobené výnimočným mutačným mechanizmom – expanziou krátkych tandemových repetíc. Poznatky autorka získala na obrovskom súbore pacientov, ktorí boli získaní z rutínnej DNA diagnostiky. Na súbore pacientov s FXS a ich rodín boli pozorované typické zákonitosti intergeneračného prenosu alielu. V súbore pacientov testovaných v géne DMPK popísali významný nález sekvenčných prerušení repetícií CTG ako prví na svete. Za veľmi prínosnú pre rutinnú diagnostiku považujem vytvorenie algoritmu molekulárnych vyšetrení. Púťavou časťou práce sú uvádzané raritné kazuistiky s podrobným klinickým popisom, genealógiou a následným objasnením fenotypu na úrovni DNA. Pre kliniku je poučná výrazná variabilita klinických symptómov u FXS, DM1 a DM2 v korelácii s výsledkami DNA analýzy. Pozoruhodnou je skupina starších pacientov s intenzívnym trasom a s premutáciou v géne FMR1. Tento súhrn poznatkov klinických v korelácii s molekulárnou podstatou poskytuje návod pre bežnú klinickú prax.

Po veľmi pútavej čítaní dizertačnej práce je možné konštatovať, že anotované ciele boli nielen bez zbytku splnené, ale vysoko prekračujú požiadavky kladené na doktorantskú dizertačnú prácu.

#### **Záver posudku**

Predložená doktorandská práca Mgr. **Zuzany Mušovej** splňuje základné formálne i obsahové predpoklady pre získanie titulu PhD v obore Molekulárna a buněčná biologie, genetika a virologie na Karlovej Univerzity v Praze. Doporučujem preto jej kladné posúdenie.

Na autorku mám nasledujúce dotazy:

- 1) Aký bol priemerný vek chlapcov s potvrdenou diagnózou FXS a akú skúsenosť máte so spoluprácou rodín s familiárnym výskytom FXS.
- 2) Je indikáciou k molekulárnemu vyšetreniu žena s predčasným ovariálnym zlyhaním bez pozitívnej rodinnej anamnézy? Tieto ženy sa ocitajú v centrách asistovanej reprodukcie a podstupujú intenzívnu liečbu. Je niekde údaj o záchytech premutácie FXS génu v tejto skupine žien?

V Prahe 13.4.2010

Doc.MUDr. Alice Baxová,CSc

ÚBLG VFN a 1.LF a VFN UK

