

Studentka: Bc. Dominika Veselá

Název práce:

HLA typizace v klinické praxi – využití k testování predispozic k onemocněním autoimunitního typu.

Posudek školitele

Práce Dominiky Veselé je zaměřena na autoimunitní onemocnění a jejich asociaci s HLA systémem, přičemž podstatná část, zejména ta metodická je věnována celiakii a její diagnostice. Celá práce je sepsána velice pečlivě, je obsáhlá (119 stran i přílohami) a uvádí nadprůměrný počet citovaných zdrojů (307). Po gramatické, stylistické i grafické stránce hodnotím práci jako zdařilou. Oceňuji zejména zpracování jednotlivých genetických výsledků, poměrně náročnou digitalizaci dat a jejich statistické zpracování. Pro získání druhého datového souboru musela Dominika cestovat na vlastní náklady do Prahy na ÚHKT do Národní referenční laboratoře pro DNA diagnostiku, kde strávila několik dní přípravou datového souboru. Chválím také diskusi, ve které studentka prokázala schopnost interpretace vlastních výsledků v kontextu publikovaných prací.

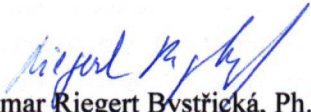
Studentka byla při sepisování práce velmi samostatná. Stejně tak při práci v laboratoři, kde patří mezi ty zodpovědné, pečlivé a dobře chápající všechny metodické procesy používané v laboratoři a to i přes svůj výrazný oční handicap. K laboratorní práci přistupovala vždy statečně a nadšeně, dokonce pomáhala svým kolegyním, během jejich experimentální části, a také v případě potřeby v laboratoři vypomáhala v rámci běžného provozu. Zvládla všechny metody, které uvádí v metodické části své práce, jednalo se izolaci DNA, dále o SSP PCR a real-time PCR, kdy byly využity komerční kity běžně užívané v klinické praxi. V rámci laboratorní praxe odpipetovala dostatečné množství PCR reakcí a získala tak, jistě cennou, laboratorní praxi v klinické laboratoři. Při zadávání práce jsme ani nepočítali s novými experimenty. Stěžejní část práce spočívala v sumarizaci získaných výsledků a jejich statistickém zpracování. Součástí práce byla také podrobně zpracovaná kazuistika jedné z klientek laboratoře GENLABS, kdy byly vrozené rizikové faktory vyšetřeny u v rámci rodiny u tří generací.

Jedním z hlavních cílů bylo stanovení reálných alelových frekvencí HLA systému v české populaci a zjištění, zda se u nás vyskytuje tzv. ancestrální haplotyp H8.1 nejvíce spojovaný s autoimunitními onemocněními v kavkazské populaci. K dispozici byly dva datové soubory. První byl získán z naší laboratoře (GENLABS), jednalo se celkem o 283 vzorků a druhý z Národní referenční laboratoře pro DNA diagnostiku, dataset z oddělení HLA při ÚHKT v Praze čítal 70 vzorků. Klinicky průkazná diagnóza byla dostupná pouze u druhého datového souboru, který zahrnoval výhradně pacienty s celiakií. Soubor získaný z naší laboratoře byl podstatně větší ovšem bez jakékoli klinické dokumentace. Jednalo se o klienty – samoplátce. A protože si vyšetření zaplatili na základě podezření pro toto onemocnění, či z důvodu zamítnutí provedení tohoto vyšetření jejich lékařem, označila je Dominika jako jedince se suspektní diagnózou. Výskyt rizikových alel byl na první pohled vyšší, než se uvádí v literatuře (max. 40% v populaci, v našem souboru jich bylo 65%). Statistické hodnocení výsledků je provedeno na dostačující úrovni. Použitá multivariátní analýza nevyžaduje vyrovnanost počtu vzorků v porovnávaných kohortách. Výsledné grafy velmi názorně ukazují jednotlivé rizikové alely ve vazbě, přičemž výskyt konkrétních rizikových haplotypů je v rámci studovaných souborů odlišný. Zajímavé se jeví zejména méně časté alely DQA1\*03 a DRB1\*03, které zřejmě zvyšují riziko onemocnění. Důležitým výsledkem této práce nebylo pouze určení frekvencí sledovaných alel, ale také ověření výskytu ancestrálního haplotypu v české populaci.

Vymezené cíle diplomové práce byly naplněny. Práce byla přínosná nejen pro naši laboratoř, ale také i pro národní referenční laboratoř v Praze, kde bohužel není čas na podobné zpracování získaných dat. Navíc tyto výsledky budou sloužit jako tzv. preliminary data pro další výzkum nebo odborné sdělení, protože českou populační studii takto zaměřenou jsme dosud neobjevili. S datovými soubory budeme pracovat i nadále a za toto pilotní dílo Dominice osobně velmi děkuji.

Práci plně doporučuji k obhajobě.

Dne 22.1. 2020 v Adamově

  
Mgr. Dagmar Riebert Bystřická, Ph.D.