

# Oponentský posudek dizertační práce

## Role of Genetic Factors Responsible for Development of Pancreatic Cancer

Autorka: Mgr. Marianna Borecká

Pracoviště: Laboratoř Onkogenetiky, Ústav Biochemie a Experimentální Onkologie, 1.lékařská fakulta Univerzity Karlovy, Praha

Školitelka: RNDr. Markéta Janatová Ph.D.

Předkladatelka se ve své dizertační práci zaměřila na zkoumání významu genetických faktorů predisponujících k jednomu z nejzávažnějších nádorových onemocnění duktálním adenokarcinomu pankreatu (PDAC) v české populaci. Předkládaná dizertační práce je zpracována klasickým způsobem a velmi přehledně členěna na jednotlivé části.

Teoretický úvod poskytuje dostatečný přehled o současném stavu poznání v oblasti výskytu PDAC a germinálních mutačních profilů genů spojených s predispozicí a rizikem vzniku PDAC a jejich možným uplatněním při zachycení rizika vzniku PDAC a následně v případné optimalizaci terapeutického režimu. Zvláštní pozornost je v úvodní části věnována struktuře a funkci genů PALB2 a NBN, stejně jako jejich souvislosti s predispozicí k nádorovým onemocněním včetně PDAC. Metodická sekce je zpracována kvalitně a velmi podrobně. Autorka ve své práci použila široké spektrum molekulárně-biologických a biochemických metod od izolace genetického materiálu, přes PCR a real-time PCR techniky, klasické Sangerovo sekvenování až po sekvenování nové generace, konkrétně stanovení cíleného sekvenančního panelu CZEKANCA. Autorka se obeznámila s bioinformatickým hodnocením získaných dat a celou řadou predikčních nástrojů. Velmi pozitivně hodnotím, že se autorka v rámci svého doktorského studia věnovala i funkční charakterizaci a vlivu genových alterací genu PALB2 na funkci samotného proteinu s využitím moderního přístupu CRISPR-Cas9 technologie.

Výsledková část je přehledně zpracována. Výstupy analýz jsou vždy shrnuty do přehledných tabulek a grafů a v případě NGS výstupů doplněny daty získanými z použitých predikčních programů. Byla potvrzena role PALB2 jako PDAC predispozičního genu v české populaci a nalezena varianta genu NBN zvyšující riziko vzniku PDAC. Pomocí sekvenování panelu CZEKANCA byla potvrzena přítomnost mutací známých predispozičních genů např. BRCA1/2, PALB2, ATM, NBN, CHEK2 a BRIP1. Z nových kandidátních genů se jako nejslibnější jeví LIG4 se stejnou frekvencí patogenních variant jako BRCA1 a CHEK2. V části práce věnující se funkční charakterizaci genu PALB2 jsou podrobně popsány postupy CRISPRem zprostředkované editace tohoto genu a významu jeho genové alterace sledováním aktivity homologní rekombinace na modelovém systému buněčné linie osteosarkomu.

V bohatě rozvedené diskusní části a závěrech práce jsou shrnuty hlavní výstupy a potenciál sledování cíleného sekvenančního panelu v identifikaci nádorové predispozice PDAC a rovněž je diskutován význam genetické variability konkrétních predispozičních genů PALB2 a NBN a jejich souvislost s rizikem rozvoje PDAC.

Po formální stránce je práce zpracována velmi dobře, napsaná dle mého názoru jasnou a srozumitelnou angličtinou. Přes 200 použitých referencí je uvedeno formálně ve správném tvaru a obsahuje dostatečný počet recentních prací.

Práce obsahuje celou řadu potenciálně velmi významných dat sledování genetické variability v souvislosti s rizikem vzniku a rozvoje PDAC, která by v budoucnu zasloužila být u kandidátních predispozičních genů validována na dalších sítích patientských kohort s PDAC, porovnána přímo se somatickým mutačním profilem PDAC a sledována genová editace přímo v modelech pankreatických nádorových buněk např. s různým genetickým profilem KRAS dráhy.

Publikačním základem disertační práce jsou dva prvoautorské články a jeden spoluautorský v žurnálech s impakt faktorem, ovšem předkladatelka je spoluautorkou dalších devíti vědeckých impaktovaných článků.

*Z odborného hlediska mám k předložené dizertační práci dva dotazy:*

- 1) V úvodní části jsou zmiňovány jako potenciální terapeutické látky PARP inhibitory (PARPi) u BRCA1/2 mutovaných pacientů. Mohla byste popsat mechanismus působení PARP inhibitorů a říci, v jaké fázi jsou v současnosti jeho možnosti využití v klinické praxi u PDAC ev. jaká je situace s možným výskytem rezistence vůči PARP inhibitorům?
- 2) Jako jeden z nejslibnějších nových kandidátních genů se ukázala v předložené práci gen LIG4 ze skupiny DNA ligas. Jaký je potenciál využití DNA ligas jako terapeutických cílů zejména využití inhibitorů DNA ligas a jejich genové inaktivace?

Dále mám k práci jednu formální připomínku. V kapitole 3.1.8. a 3.2.4 není uveden software, který byl využit pro výpočty uvedených Fisherových a Mann-Whitney testů porovnávajících frekvence mutací u případů a kontrol a v souvislosti s klinickými údaji pacientů.

Celkově předloženou dizertační práci považuji za velmi zdařilou. Autorka jasně prokázala dobré znalosti studované problematiky, praktické zvládnutí široké škály použitých experimentálních metod a v neposlední řadě doložila svůj vysoký publikační potenciál řadou zveřejněných odborných článků v žurnálech s kvalitním impakt faktorem. Autorka již rovněž získala i mezinárodní zkušenosti při svých dvou studijních pobytech v zahraničí, což vše tvoří velmi dobrý základ pro její budoucí vědeckou kariéru.

Navrhuji tuto práci přijmout k obhajobě a udělit Mgr. Marianně Borecké akademický titul Ph.D.

V Praze dne 19.11.2020

RNDr. Radka Václavíková Ph.D.  
Odd. Toxikogenomiky  
Státní zdravotní ústav  
Šrobárova 48  
100 42 Praha 10