

V Praze dne 29. srpna 2008

Oborová rada: Biochemie a patobiochemie
Předseda oborové rady: Prof. MUDr. Jiří Kraml, DrSc.

Věc: Oponentský posudek disertační práce ing. Evy Vondruškové

Tématem disertační práce ing. Evy Vondruškové je vypracování laboratorních postupů a vývoj systémů *in vitro*, které mají sloužit studiu vlivu různých alterací genu *BRCA1* na buněčné funkce.

Náplň postgraduálního studia byla školitelem vhodně zvolena, protože tato problematika je dnes velmi aktuální. Vždyť jen v posledním roce vyšlo na toto téma 628 publikací. Z pohledu základního výzkumu je stále nedořešena otázka regulace exprese genu *BRCA1*, funkcí fyziologických i aberantních variant proteinu *BRCA1*, interakcí proteinu *BRCA1* apod. Také z pohledu klinického je znalost stavu genu *BRCA1* významná. Pro lékaře je totiž velmi důležité znát předpokládaný původ nemoci – jde-li o nádor vzniklý náhodnou souhrou okolností, nebo zda se jedná o nádor vzniklý na podkladě vrozené mutace genu *BRCA1* nebo *BRCA2*. Léčba obou forem nádorů se totiž zásadním způsobem odlišuje již dnes v oblasti volby operačního výkonu, hormonální terapie, a v blízké budoucnosti se předpokládá vzhledem k různé chemosenzitivitě dědičně podmíněných nádorů jiný výběr cytostatik pro adjuvantní i paliativní onkologickou léčbu. Také sledování pacientek po ukončení onkologické léčby zohledňuje mutační stav genů *BRCA1* a *BRCA2* při výběru zobrazovacích metod a četnosti dispenzárních kontrol.

Anglicky psaná práce zahrnuje 40 stránkový úvod, 20 stránkový popis metodického přístupu a 24 stran výsledků s diskuzí. Rozsah práce považují za přiměřený, práce je vhodně doplněna názornými obrázky, grafy a tabulkami. Drobnou výtka směrem k autorce je nedodržování konvence zápisu *gen* vs *protein*. Jazykově je práce napsána na velmi dobré úrovni.

Úvod ukazuje, že paní ing. Eva Vondrušková pochopila ve velké šíři současný stav vědomostí, které se týkají studovaného onkosupresorového genu *BRCA1*.

Cíle práce jsou formulovány stručně a výstižně. Zahrnují zavedení metodik k potlačení exprese fyziologické varianty proteinu *BRCA1* a kultivace buněčných linií karcinomu prsu, které jsou arteficiálně upraveny tak, aby nesly v homozygotním stavu předem zvolenou mutaci genu *BRCA1*.

Část **Materiál a metody** působí velmi celistvým dojmem a je přímo nabitá množstvím metodik, které byly v práci použity. Většina z nich vyžaduje náročné technické vybavení a vysokou míru manuální zručnosti. Jedná se o postupy molekulárně biologické (izolace nukleových kyselin, kvantitativní PCR reakce,

transfekce a infekce buněk, navrhování a klonování vektorů, kultivace buněčných linií, Western blotting) i biochemické (průtková cytometrie).

Kapitola Výsledky a diskuse obsahuje v jednotlivých podkapitolách výčet dosažených dílčích výsledků, které jsou ihned doplněny rešerší a komentářem vlastních výsledků v kontextu současného poznání. Osobně mne tento způsob prezentace výsledků připadá do určité míry nepřehledný; čtenář si musí výsledky ing. Vondruškové poměrně obtížně hledat v textu. Věřím však, že jiným čtenářům bude prezentace právě díky sloučení výsledků a diskuze vyhovovat.

V práci bych doporučil doplnit seznam publikací autorky. Ten najdeme pouze v autoreferátu. Z přehledu, který jsem si připravil z webové stránky PUBMED však musím ke cti autorky sdělit, že v tuto chvíli lze pod jejím jménem nalézt již čtyři práce v impaktovaných časopisech, ve dvou z nich je uvedena jako první autorka. Uvedené práce již byly v průběhu velmi krátkého období od jejich zveřejnění 15x citovány.

K práci nemám kromě výše uvedených drobných připomínek žádné zásadní výhrady.

Doplňující otázky:


1. V úvodu práce je krátce zmíněn potenciální přínos studovaných metodik pro klinickou praxi. Mohla by ing. Vondrušková popsat, jak si využití uvedeného systému představuje?
2. Při použití jakých cytostatik v léčbě hereditárních karcinomů prsu lze předpokládat nejvyšší účinnost léčby?
3. Je uvedený systém použitelný také při studiu sporadických nádorů?

Závěr

Práci předloženou ing. Evou Vondruškovou považuji z odborného i formálního hlediska za velmi dobrou, a v kontextu jiných prací za nadprůměrnou.

Domnívám se, že ing. Eva Vondrušková prokázala schopnost samostatné tvořivé práce a úspěšná obhajoba disertační práce povede k udělení titulu Ph.D.

V Praze, 30. srpna 2008



As. MUDr. Jan Novotný, Ph.D.
Onkologická klinika VFN a 1. LF UK
U nemocnice 2, Praha 2, 128 08
onkologie@seznam.cz