

**Věc: Oponentský posudek na dizertační práci Ing. Miluše Hubáčkové v rámci doktorského studia v programu *Preventivní medicína*.**

Práce Ing. Hubáčkové se zabývá hledáním genetických biomarkerů umožňujících určení rizika vzniku nádorových onemocnění, odhad prognózy a stanovení vhodného léčebného režimu. Hlavním cílem bylo zodpovězení otázky, zda polymorfismy v genech biotransformačních enzymů a enzymů oxidativního stresu (NQO1/2, SOD2/3, některé enzymy z rodiny CYP), popřípadě míra jejich exprese v nádorové tkáni, ovlivňují riziko vzniku karcinomu prsu, jeho prognózu a výsledky chemoterapie. Dalším cílem pak bylo zjistit, zda polymorfismy a míra exprese genu mnohočetné lékové rezistence ABCB1 ovlivňují účinky cytostatik u pacientek s karcinomem prsu.

Základem laboratorní práce jsou skriningové metody založené na TagMan a NanoChip esejích pro genotypizaci studovaných polymorfismů, kvantitativní real-time PCR pro studium hladiny transkriptů daných genů a imunohistochemická detekce sledovaných proteinů. Pro korelaci nalezených výsledků s klinicko-patologickými daty byla využita řada vhodně zvolených metod statistické analýzy. Během práce byl vyšetřen reprezentativní soubor 321 vzorků krve od pacientek s karcinomem prsu, 120 vzorků nádorové a 51 vzorků nenádorové tkáně.

Předložený text dizertační práce má klasické členění a rozsah jednotlivých kapitol je přiměřený. Úvod na 17 stranách seznamuje s principy karcinogeneze, typy nádorové terapie, karcinomem prsu a základy lékové rezistence nádorů a následně s funkcí studovaných enzymů a strukturou jejich genů. Pouze odstavec o genu *TP53* v kapitole o karcinomu prsu mi připadá trochu vytržený z kontextu. Metodická část na 9 stranách popisuje využití postupů. Výsledková část (25 stran) plně a srozumitelně odpovídá na otázky položené v cílech práce a je doplněna osmi obrázky a dvanácti tabulkami. Pro lepší ilustraci použitých metod bych uvítala obrázek z výsledků genotypizace studovaných polymorfismů. Na výsledky navazuje diskuze (10 stran), ve které autorka komentuje dosažené výsledky v kontextu dosavadních publikovaných prací a klinickou aplikaci nalezených vztahů a navrhuje další výzkumné aktivity. V závěru jsou bodově shrnuty nejvýznamnější poznatky. Text je doplněn seznamem zkratk. Práce obsahuje celkem 170 literárních odkazů, které dokazují autorčinu dobrou orientaci ve zpracovávané problematice. Na konci práce je připojeno jako příloha šest plných textů autorčiny publikací, čtyři v časopisech s IF, kde u dvou je prvním autorem.

**Připomínky a otázky:**

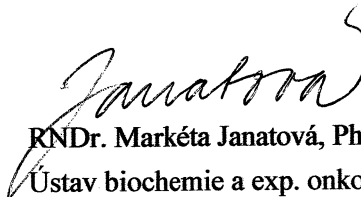
1. Práce obsahuje málo překlepů a drobných chyb. Zmínila bych jen špatné označení obrázku na straně 36, dle mého názoru se nejedná o obrázek 2A-D, ale 5A-D.
2. V kapitole 3.2. Pacientky je kromě popsaných souborů vzorků ještě zmíněn soubor archivních vzorků, ale bez bližších charakteristik. V oddíle Výsledky jsou některé analýzy provedeny na menších souborech a není zcela jasné, kam je zařadit (Kapitola 4.3. a 4.4.). Moje otázka se týká výběru evaluačního a validačního souboru z kapitoly 4.1. Jejich charakteristiky jsou popsány až v oddíle Výsledky a neví jistě, zda jsou součástí celého souboru popsaného v oddíle Materiál a Metody. Čím se liší a jak si vysvětlujete někdy stejné výsledky analýz (kapitola 4.1.1.) a někdy naopak rozdílné, např: v kapitole 4.1.2. Vztah mezi NQO1 a klinicko-patologickými charakteristikami pacientek?
3. Z vaší práce vyplývá, že přítomnost polymorfismu Pro187Ser způsobuje ztrátu enzymové aktivity NQO1 a je rizikovým faktorem vzniku karcinomu prsu. Oproti tomu v úvodu zmiňujete, že vysoká hladina tohoto enzymu byla nalezena v řadě nádorů. Čím si to vysvětlujete?

Závěr:

Výsledky práce přinášejí zhodnocení významu studia genetických polymorfismů, exprese transkriptu a proteinu u enzymů podílejících se na biotransformaci a regulaci oxidativního stresu při stanovení rizika vzniku karcinomu prsu, jeho prognózy a významu analýzy genu mnohočetné lékové rezistence v odpovědi na chemoterapii. Kladně hodnotím kvalitu práce, ve které autorka prokázala schopnost samostatné vědecké činnosti a orientace ve studovaném problému. Dosažené výsledky jsou originální a přispívají k dalšímu rozvoji výzkumu v dané oblasti

**Na základě výše uvedeného doporučuji práci Ing. Miluše Hubáčkové k obhajobě s následným udělením titulu Ph.D. uváděným za jménem.**

V Praze dne 23.8. 2013



RNDr. Markéta Janatová, Ph.D.

Ústav biochemie a exp. onkologie 1. LF UK

Tel: 224965739

mjana@lf1.cuni.cz