

## Posudek oponenta na doktorskou dizertační práci Mgr. Petra Martínka s názvem „Molekulárně genetické profilování nádorů urogenitálního traktu“

Jak píše Mgr. Martínek v úvodu, práce je psána z pohledu molekulárního genetika a z této perspektivy je vyhotovený i tento posudek. Sjednocujícím motivem jsou nádory urogenitálního traktu.

Samotná práce je napsána formou komentovaného souboru jedenácti článků publikovaných v impaktovaných časopisech, z toho jedna publikace je s prvoautorstvím. Již samotné číslo impaktovaných publikací je poměrně úctyhodné, navíc se Mgr. Martínek podílel na dalších 5 publikacích, které nejsou podkladem pro obhajovanou práci. Již z toho je zřejmé, že Petr je velmi platným expertem v oblasti molekulární genetiky v rámci vědeckého pracovního týmu zde na Šiklově patologickém ústavu a Bioptické laboratoři. Na druhou stranu bych uvítal detailnější popis činnosti na jednotlivých publikacích, než jaký je uveden v předmluvě. Mohu poprosit alespoň o stručné ústní doplnění.

Zaměření Mgr. Martínka se logicky odráží i v akcentu na diagnostické metody molekulární biologie v úvodu práce, ovšem s tím, že z mého pohledu velmi přehledně a dostatečně vysvětluje i klasifikaci nádorů ledvin, lehce se dotýká epidemiologie a poměrně podrobně se věnuje biomarkerům nádorů ledvin. Některým pasážím bych přeci jen vytkl až přílišnou stručnost a přeci jen by jim slušelo větší rozvedení textu. Např. v kapitole 1.5 je popsán efekt miRNA takto: „Jako nový a potenciálně významný zdroj biomarkerů se jeví mikroRNA (Redova et al. 2011). Jedná se o jednořetězové nekódující RNA, které regulují genovou expresi na post-translační úrovni.“ Z mé zkušenosti naopak miRNA u nádorových onemocnění působí spíše na úrovni transkripce (např. u MDS a AML). Jak je to u renálních karcinomů netuším, mohl bych poprosit o stručné dovysvětlení v rámci obhajoby?

V práci je též uvedeno použití celé řady metod molekulární biologie – namátkou byly použity techniky PCR, qPCR, RT-PCR, FISH, různé izolace DNA a RNA (z krve, tkání i z parafínových bločků), Sangerovo sekvenování na kapilárních sekvenátorech a sekvenační analýza, a aCGH. Už jenom zvládnutí či alespoň porozumění výsledkům všech těchto technik je podle mě skvělým výsledkem doktorandského studia. Samotné metodické postupy jsou popsány v souladu s pravidly v publikovaných časopisech.

Heterogenita oblasti diagnostiky renálních karcinomů se odráží i v 11 cílech práce, kdy jednotlivé konkrétní cíle odrážejí témata řešená v publikovaných pracích. V zásadě by se všechny cíle daly shrnout do nadmožiny: „příspěk k lepší diagnostice a charakterizaci nádorů urogenitálního traktu“.

Jednotlivé odpovědi na otázky položené v každém s dílčích cílů, jsou vyřešeny v publikovaných článcích. V některých případech, jako u článku čl. 1 (Genetic testing of leiomyoma tissue in women younger than 30 years old might provide an effective screening approach for the hereditary leiomyomatosis and renal cell cancer syndrome (HLRCC)), mají získané poznatky okamžitý přímý vliv na diagnostický postup laboratoř, kde Mgr. Martínek působí. Odpovědi na některé jiné cíle tak jednoznačně nejsou a v zásadě ústí v doporučení rozšířit spektrum diagnostických metod o více parametrů – typicky např. čl. 2 (Molecular-genetic analysis is essential for accurate classification of renal carcinoma resembling Xp11.2 translocation carcinoma) či l. 8. (Chromophobe renal cell carcinoma--chromosomal

aberration variability and its relation to Paner grading system: an array CGH and FISH analysis of 37 cases). Velmi přínosné a zajímavé se mi zdály práce, které charakterizovaly nové nebo nezařaditelné typy nádorů – např. čl. 6 (Choriogonadotropin positive seminoma-a clinicopathological and molecular genetic study of 15 cases), čl. 9 (Renal cell carcinoma with areas mimicking renal angiomyoadenomatous tumor/clear cell papillary renal cell carcinoma) a čl.11 (Biphasic alveolosquamoid renal carcinoma: a histomorphological, immunohistochemical, molecular genetic, and ultrastructural study of a distinctive morphologic variant of renal cell carcinoma), kdy tento výsledek by mohl mít obecný přesah do onkogeneze jako takové.

Další velmi zajímavou oblastí výsledků jsou data, která měla nějaký vliv na použitou terapii. To je případ čl. 5 (The leiomyomatous stroma in renal cell carcinomas is polyclonal and not part of the neoplastic process), který má i pěkný přesah do možné interpretace příčiny nerovnoměrné odpovědi na léčbu v nalezení polyklonálního původu hladkosvalové stromální komponenty (HSK) a též čl. 10 (Tubulocystic renal cell carcinoma: is there a rational reason for targeted therapy using angiogenic inhibition? Analysis of seven cases), kde je naopak zpochybněno účelnost terapie směrem k zapojení nejznámějších angiogenních drah.

Formální stránka práce je dána z velké části uspořádáním do souboru sebraných článků ke zvolenému tématu. Přiložená souhrnná část je sepsána s minimem překlepů, přehledně a též typologicky velmi jednoduše. Což lze z hlediska přehlednosti přivítat, i když, jak jsem psal v úvodu, někdy to může být i na úrok přesnosti některých pasáží. Kladem je určitě citační přesnost, kdy jsem při náhodné kontrole nenašel jedinou špatně uvedenou citaci.

Co se týče věcné části textu, tak bych měl několik následujících otázek. Některé už byly zmíněny, ale pro přehlednost je uvedu i zde.

- V úvodu je uvedena incidence nádorů ledvin trochu nekonkrétně jako „ve vyspělých zemích“. Jaká je incidence v ČR?
- Jakými mechanismy ovlivňují miRNA expresi proteinů u buněk renálních karcinomů?
- Některé výsledky by zajisté stálo za to dále rozvíjet např., pokud je závěrem konstatování o nutnosti použití dalších metod u čl. 2. Plánujete napříč uvedenými publikovanými výsledky nějakou další studii za použití pokročilejších metod např. NGS?
- U čl. 2 bylo použito vzorků od pacientů ve věkovém rozmezí 22 – 84 let. Nemohlo by i toto věkové rozmezí ovlivnit velkou měrou heterogenitu dat evnt. naopak korelovat s některým z parametrů?
- V čl. 3 je uveden nález amplifikace lokusu TFEB u agresivního typu renálního karcinomu s translokací. Je tato amplifikace příčinnou této agresivity evnt. jakým mechanismem působí?
- U popisu izolace DNA je zmíněno testování čistoty a měření koncentrace spektrofotometricky. Měříte izolovanou DNA (hlavně z FFPE vzorků) i přesnějším metodou pomocí fluorimetrie např. pomocí Qubitu? Jak vycházejí v tomto porovnání výsledky?

- V závěru Mgr. Martínek s nadějí vzhlíží nové digitální technologie, jako NGS či ddPCR. V souvislosti se zaváděním NGS do diagnostika vzácných dědičných chorob se uplatňuje korelace s digitálním fenotypem HPO. Existuje nebo připravuje se nějaká podobná klasifikační databáze, která je provázána s databází variant, i u nádorů ledvin?

Závěrem tohoto posudku bych ještě jednou ocenil objev některých unikátních molekulárně biologických charakteristik studovaných nádorů a velice kvalitní publikační aktivitu.

Celkově doporučuji dizertační práci Mgr. Petra Martíňka k úspěšné obhajobě.

V Praze 25.5 2015

RNDr. Zbyněk Halbhuber, Ph.D.

**IPST, s.r.o.**

Dišnická 372/20, 142 00 Praha 4

fax: 244 001 231 244 001 235

1079 DIČ CZ25791079

