

DIPLOMOVÁ PRÁCE

Molekulárně-genetická analýza papilárního karcinomu štítné žlázy

Vlasta Sýkorová

Katedra antropologie a genetiky člověka, Přírodovědecká fakulta,
Univerzita Karlova v Praze

POSUDEK ŠKOLITELE

Předkladatelka, slečna Vlasta Sýkorová, ve své diplomové práci navázala na výzkumné aktivity našeho vědeckého týmu, který se snaží přispět k poznání molekulárně genetických příčin nádorů štítné žlázy. Slečna Sýkorová se po krátké zaučovací době stala platným členem řešitelských týmů dvou grantových projektů (IGA MZ ČR NR/7806-3 a IGA MZ ČR NR/9165-3). O její výzkumné aktivitě svědčí 3 publikace a 4 prezentace na tuzemských a zahraničních symposiích (viz příloha).

Nádory štítné žlázy jsou nejčastější endokrinní malignitou. Ve své diplomové práci se Vlasta Sýkorová zaměřila na studium genetických příčin papilárního karcinomu štítné žlázy (PTC), který představuje 80-85% karcinomů štítné žlázy. Genetická podstata PTC stále není plně objasněna, je však známo již několik typů genetických alterací, které hrají v patogenezi PTC roli. Nejvíce byly tyto genetické změny studovány u pacientů z Běloruska a Ukrajiny, kteří byli bezprostředně postiženi černobylskou jadernou havárií (r. 1986). Prokázala se jasná souvislost genetických alterací s touto havárií. V české populaci genetické příčiny PTC a ani případný vliv černobylské havárie na prevalenci PTC, která neustále vzrůstá, dosud nikdo nestudoval. Cílem diplomové práce bylo zavést molekulárně genetické metody detekce přítomnosti nejčastějších genetických alterací – fúzních genů RET/PTC1 a RET/PTC3 a stanovení mutace BRAF, zjistit frekvenci těchto změn v nádorových tkáních pacientů s PTC a korelovat genotyp s fenotypem.

Diplomová práce byla velmi pestrá, co se týče použitých molekulárně genetických metodik. Mnohé z nich, zejména práce s RNA, vyžadovaly velkou pečlivost a zručnost. Rozsah laboratorních prací je obdivuhodný. Primárním úkolem bylo zavedení metod izolace nukleových kyselin (DNA i RNA) z čerstvých zamražených tkání a biopsií i z parafinových bločků. Zejména zda byla izolace genetického materiálu vzhledem k pokročilému stádiu jeho

degradace velmi problematická. Diplomantka vyzkoušela řadu izolačních postupů. Byla zavedena detekce fúzních genů RET/PTC, včetně genů kontrolních, i detekce mutace V600E v BRAF genu. Vlasta Sýkorová si osvojila metody expresní analýzy, včetně metody real-time PCR, kterou prováděla v rámci své stáže na Univerzitě ve Swansea, ve Velké Británii. Využívala i screeningové metody SSCP a metody sekvenace DNA na dvou typech sekvenátorů. Dostupná data o pacientech spolu s výsledky genetických analýz ukládala do databáze a podrobila je statistickému vyhodnocení.

Výstupem je řada prioritních výsledků – zjištění prevalence obou typů genetických alterací v české populaci a jejich klinické projevy. Výsledky slouží zatím spíše základnímu výzkumu, ale v budoucnu je bude možno využít i k přesné a včasné diagnostice PTC. V hledání spolehlivých genetických markerů PTC by chtěla slečna Sýkorová pokračovat v rámci své dizertační práce.

U slečny Vlasty Sýkorové bych ráda vyzdvihla její laboratorní zručnost, pečlivost, kreativitu, samostatnost a technickou zdatnost. Ovládá metody DNA a RNA analýzy, práci s počítačovými databázemi, sleduje odbornou literaturu týkající se výzkumného tématu. Umí samostatně vyhodnocovat data a prezentovat výsledky i na mezinárodním fóru.

Věřím, že její diplomová práce splňuje všechny podmínky a že bude přijata a hodnocena kladně.

Posudek vypracovala: RNDr. Běla Bendlová, CSc.

Endokrinologický ústav
Národní 8, 116 94 Praha 1
Tel.: 24 905 287, Fax: 24 905 325
bbendlova@endo.cz

V Praze dne 7.5. 2007

Vlasta Sýkorová – publikace a prezentace

SEZNAM PUBLIKACÍ:

1. Sýkorová V, Dvořáková Š, Kodetová D, Astl J, Ryška A, Dušková J, Vlček P, Novák Z, Bendlová B 2007 Genetické příčiny vzniku papilárního karcinomu štítné žlázy Diab Metab Endokrinol Výživa 1: 30-35.
2. Dvorakova S, Vaclavikova E, Sykorova V, Duskova J, Vlcek P, Ryska A, Novak Z, Bendlova B 2006 New multiple somatic mutations in the RET proto-oncogene associated with a sporadic medullary thyroid carcinoma. Thyroid 16: 311-316.
3. Bendlová B, Dvořáková S, Václavíková E, Sýkorová V, Vlček P, Škába R 2006 Rakovina štítné žlázy a Hirschsprungova choroba – 10leté zkušenosti s molekulárně-genetickým testováním RET proto-okogenu. Vnitř Lek 52: 926-934.

PREZENTACE V ČR S MEZINÁRODNÍ ÚČASTÍ:

1. Sýkorová V, Dvořáková Š., Astl J., Veselý D., Novák Z., Bendlová B.: Zavedení diagnostiky genetických změn u papilárního karcinomu štítné žlázy (přednáška) – XXVIII. Endokrinologické dny s mezinárodní účastí, 20.-22.10.2005, Olomouc, Sborník abstrakt str. 127
2. Sýkorová V, Dvořáková Š, Laco J, Ryška A, Kodetová D, Astl J, Veselý D, Bendlová B: Detekce mutace v BRAF genu u papilárního karcinomu štítné žlázy (poster) – XXX. Brněnské onkologické dny, 11.-13.května 2006, Brno, Edukační sborník str. 195
3. Sýkorová V, Dvořáková Š, Laco J, Ryška A, Kodetová D, Astl J, Veselý D, Novák Z, Bendlová B: Diagnostika genetických změn u papilárního karcinomu štítné žlázy (přednáška) – Dny diagnostické, prediktivní a experimentální onkologie, 7.-9.12.2006, Olomouc, Abstrakta str. 34-35

PREZENTACE V ZAHRANIČÍ:

1. Sykorova V, Dvorakova S, Laco J, Ryska A, Kodetova D, Astl J, Vesely D, Bendlova B: Analysis of BRAF Point Mutation in Papillary Thyroid Carcinoma (poster) - 9th European Congress of Endocrinology 28.4.-2.5.2007, Budapest

ODBORNÁ STÁŽ:

University of Wales a Singleton Hospital, Swansea, Velká Británie (Prof. G. Thomas)