

Oponentský posudek disertační práce

„Využití moderních molekulárně-genetických metod v prevenci, časně diagnóze, predikci léčby a prognóze nádorových onemocnění“

autorky

Lucie Benešové

Disertační práce autorky vychází z poznatků a zkušeností získaných v laboratoři Genomac International s.r.o., která nabízí řadu molekulárně genetických diagnostických vyšetření pro klinické účely. Z celé palety v laboratoři Genomac Int. testovaných genů vybrala autorka skupinu genů, které nějakým způsobem souvisí s nádorovým onemocněním a lze je tedy minimálně považovat za onkogenetické markery, a vedle nich pak několik dalších genů z rodiny cytochromu P450.

K analýzám používala řadu metod, některé inovovala tak, aby zrychlila a zefektivnila celý proces vyšetřování, jmenovitě metodu kapilární elektroforézy v cyklickém teplotním gradientu

V práci jsou shrnuty výsledky vyšetřování 7 genů, 2 ze skupiny tzv. protoonkogenů: KRAS a EGFR a 5 ze skupiny tumor supresorových genů: TP53, CDKN2A, APC, DCC a SMAD4. Kromě toho se autorka věnovala studiu polymorfismů některých genů jejichž aktivita souvisí s metabolismem testosteronu (Vzhledem k výskytu nádorů prostaty): CYP 17A1, CYP3A4 a SRD5A2..

Metodicky na bázi kapilární elektroforézy prováděla autorka fragmentační analýzu, analýzu ztráty heterozygotnosti (LOH), denaturační gradientovou elektroforézu (DGGE) ve výše jmenovaném uspořádání (CGCE), a sledovala jednořetězcový konformační polymorfismus (SSCP) .

Při studiu jednotlivých genů analyzovala vzorky od pacientů a od kontrolních osob, a to jednak vzorky periferní krve a nádorové tkáně. Pro zpracování vzorků nádorových používala laserovou mikrodisekci, aby se zvýšila specificita vyšetření.

Práce je provázena 8 publikacemi, z nichž dvě jsou zaslány k recenzi a jedna je již přijata. Cizojazyčné publikace (7) doplnila autorka krátkým českým abstraktem. Předložená práce dokumentuje schopnost autorky samostatně pracovat a řešit metodologické problémy, se kterými se provoz laboratoře stává efektivnějším. Z předložené práce a uvedených publikací vyplývá, že se nespokojuje používáním vyzkoušených metod, ale vyhledává a zkouší nové přístupy, které jsou pro danou oblast diagnostiky výhodnější. K textu, který je podán srozumitelnou formou a provázen dostatečným množstvím citací, nemám závažnější připomínky, jen bych dal přednost tomu, aby alespoň tam kde existuje český ekvivalent, byl použit český výraz např. vrchol namísto pik. Domnívám se, že autorka z hlediska předložené práce splňuje zákonné požadavky kladené na udělení titulu Ph.D.

17. května 2007

Prof. MUDr. Radim Brdička DrSc.



Otázky oponenta:

1. Laserovou mikrodisekcí izolované nádorové buňky již nevykazují příznaky oligoklonality ?
2. Jaký je vztah mezi cyklováním teplotního gradientu a nanášením vzorku ?
Proč byly vzorky nanášeny vždy po čtyřech cyklech ?