

Posudek na dizertační práci Mgr. Jany Soukupové

ÚLOHA GENU ATM U KARCINOMU PRSU

Předkládaná dizertační práce se zabývá závažnou a velmi aktuální tematikou. Jedná se o studium vlivu genu ATM na vznik a průběh nejčastějšího nádorového onemocnění u žen – karcinomu prsu. Komplexní analýza genu ATM zahrnovala sledování výskytu mutací, jejich funkční vliv na syntézu proteinu i efekt methylace promotoru.

Téma dizertační práce bylo zvoleno velmi vhodně neboť řeší problematiku, která může přispět k odhalení molekulárních mechanismů mutagenese a karcinogeneze. Nejvýraznějším motivem studia je hledání genetických determinant predispozice tomuto onemocnění a faktorů ovlivňujících prognózu pacientek.

Hlavní pozitiva dizertační práce.

Úvod je velmi pěkně koncipován jak obsahově tak formálně. Předkládá přehledný náhled na problematiku karcinomu prsu a centrální úlohu ATM v udržování buněk ve funkčním stavu (oprava DNA, buněčná smrt).

Z metodického hlediska je práce na vysoké úrovni a využívá jak klasické tak i moderní metodiky, jmenovitě např.: test tvorby zkrácených proteinů (PTT), analýzu přítomnosti delecí/insercí (MLPA) i její novější variantu MS-MLPA používanou k hledání metylace úseků DNA. Práce měla jako jeden z hlavních cílů rovněž optimalizovat jednotlivé metodické přístupy což se podařilo a umožní jejich budoucí využití v predikční genetice a v diagnostice. Rozdělení souboru pacientek na dědičné (avšak s negativním BRCA1/2 testem) a sporadické případy je rovněž v souladu s nejnovějšími poznatky o genetice karcinomu prsu a kvalitu práce jednoznačně zvýšilo.

Výsledková část s bohatým grafickým doprovodem ukazuje, že autorka udělala velký kus práce. Tři impaktované publikace jsou toho jasným důkazem. Experimenty byly plánovány a prováděny stejným stylem, který je na špičce současných možností lékařské genetiky u nás. Kromě opublikovaných dat autorka prezentuje i nové dosud nezveřejněné výsledky. Statistické zpracování výsledků a jejich prezentace jsou na vysoké úrovni. Studie působí velmi harmonicky a je pečlivě vypracovaná. Zároveň poskytuje dostatek podnětů k diskusi a zamyšlení nad možnými interpretacemi výsledků, což je dalším důkazem vysoké kvality výzkumu i celého vědeckého týmu.

Diskuse výsledků je vedena věcně a dobře reflektuje získané výsledky.

Závěry jsou jasně formulovány a zcela odpovídají dosaženým výsledkům. Mezi hlavní a prioritní výsledky patří:

- 1/ validace metodik pro komplexní genetickou analýzu genu ATM,
- 2/ nález 3 patogenních mutací v genu ATM (jedné dosud nepublikované), které velmi pravděpodobně přispěly ke vzniku onemocnění jinou drahou než BRCA1/2,

3/ odhalení časté metylace promotoru některých genů (kromě ATM), jež mohou v budoucnu pomoci při identifikaci dalších genů a mechanismů hrajících úlohu v etiologii karcinomu prsu,

4/ zjištění účasti mutací genu ATM v rozvoji sporadických nádorů prsu.

Pracoviště se tak přispěním této práce stalo jediným expertním místem pro komplexní analýzu mutací genu ATM v ČR.

Kritické připomínky a otázky k autoreferátu i vlastní práci.

1/ V práci je srovnávána metoda sledování ztráty heterozygoty pomocí elektroforetických profilů (Spreadex) a fragmentační analýzou. Jaká byla shoda mezi oběma metodikami? Poskytly obě stejné výsledky?

2/ U sporadických pacientek pravděpodobně mutace v BRCA1/2 testovány nebyly. Byly testovány alespoň u vzorků kde byly nalezeny LOH v ATM? Lze odhadnout jejich možný příspěvek?

3/ Co se metylací týče lze jednoznačně konstatovat, že geny WT1, PAX5, CDKN2B a RASSF1 byly metylovány u většiny pacientek. Jedná se podle Vašeho názoru o jev navozený karcinogenezí nebo jev typický pro tyto geny? Jak je tomu s metylací těchto genů ve zdravé tkáni?

4/ Byly všechny sledované pacientky před chemoterapií nebo byly některé pacientky po neoadjuvanci event. adjuvanci? Zkoušela jste vysledovat vliv chemoterapie na metylační profily?

5/ Byla provedena imunohistochemie ATM v řezech nádorových buněk. V některých nádorech nebyla exprese proteinu zaznamenána - jaká byla exprese v kontrolní nenádorové tkáni těchto preparátů?

Výše uvedené otázky slouží k rozšíření obzoru a nijak nesnižují vysokou kvalitu práce.

Dizertační práce Mgr. Soukupové zcela splnila svůj účel, protože autorka prokázala schopnost vědecké a týmové práce. Výsledky byly publikovány v kvalitních odborných časopisech.

Z těchto důvodů doporučuji předloženou práci k obhajobě.

V Praze 20.8.2008


RNDr. Pavel Souček, CSc.