

Oponentský posudek: MUDr. Lenka Foretová PhD.

Dizertační práce:

Mgr. Jana Soukupová

Název: Úloha genu ATM u karcinomu prsu

Předkládaná práce se zabývá komplexně úlohou genu ATM v etiopatogenezi nádorů prsu a germinálními mutacemi, způsobujícími dědičné riziko nádorů prsu.

Byly zkoumány zárodečné mutace v genu ATM u rizikových žen s podezřením na dědičnou etiologii nádoru prsu, kde nebyla zachycena mutace v genech BRCA1/2 a v souboru žen se sporadickým nádorem prsu. Dále byla zkoumána nádorová tkáň pacientek, které nesou zárodečnou mutaci v genu ATM. Byla zjišťována ztráta heterozygosity a hypermetylace ATM promotoru u sporadických nádorů prsu.

Jedná se o široce koncipované téma s velkým množstvím zajímavých výsledků.

Nádory prsu jsou velmi časté onemocnění se vzrůstající incidencí. Příčina onemocnění je většinou uváděna jako polyfaktoriální s přispěním jak genetických jak negenetických faktorů. BRCA1 a BRCA2 gen jsou tumorsupresorové geny s vysokým rizikem onemocnění, nicméně stále více se prokazuje, že ve většině případů onemocnění může hrát spíše roli polygenní model (polymorfismy mnoha genů čteně se vyskytující v populaci), nebo model jednoho nebo několika genů středního rizika s malou četností v populaci. ATM gen patří mezi geny s předpokládaným středním rizikem onemocnění nádorem prsu (2-4x). Údaje v literatuře o míře rizika se však liší.

V práci Mgr. Soukupové byly hodnoceny významné soubory pacientek. Bylo testováno 114 pacientek s familiárním výskytem a podezřením na dědičnou formu nádoru prsu, 47 žen se sporadickým nádorem prsu do 40 let nebo oboustranným nádorem do 50 let a kontrolní skupina 183 žen. 73 neselektovaných vzorků nádorové tkáně bylo histologicky testováno. Analýza germinálních mutací ATM byla provedena pomocí RNA a cDNA a mutace byly potvrzeny sekvenováním. Sestřihové varianty byly testovány pomocí RNA analýzy, včetně testování kontrol. ATM protein byl zjišťován imunohistochemicky v nádorech přenašečů mutace a sporadických tumorech. Ztráta heterozygosity byla testována pomocí tří mikrosatelitů, poruchy metylace ATM byly zjišťovány bisulfidovým sekvenováním a MS-MLPA.

V souboru rizikových žen byla zjištěna patogenní mutace ATM genu u tří pacientek, jedna nonsense mutace a dvě sestřihové. Další suspektní sestřihová varianta byla detekována u

jedné pacientky. Funkční testování a frekvence v populaci této varianty však spíše naznačuje, že se jedná o polymorfismus, nicméně některé literární údaje se přiklánějí k patogenicitě.

Jedná se o velmi důležité výsledky, které jsou velkým přínosem pro hodnocení etiologie nádorů prsu. ATM gen je pravděpodobně jedním z mnoha genů středního rizika, každý z nich zodpovědný jen za malou část nádorů prsu (1-2%), stejně jako např. CHEK2 gen.

Ztráta heterozygoty byla testována u 73 sporadických nádorů prsu a byla nalezena u 20.8% vzorků. Mutační analýza tumorů s LOH však neodhalila mutace v genu ATM.

Hypermetylace promotoru ATM genu u těchto sporadických nádorů nebyla detekována, byla však zjištěna významná hypermetylace promotorů jiných genů. Imunohistochemie ATM proteinu zjistila pokles exprese v téměř všech testovaných sporadických tumorech, bez asociace s LOH. Je uvažováno, že příčina snížené exprese by mohla být spojena s nižší expresí jiných proteinů.

Práce je velmi dobře zpracovaná. V úvodu jsou přehledně sepsány dosavadní znalosti o onemocnění a o molekulárně genetické problematice nádorů prsu. V metodice jsou podrobně popsány všechny metody používané ve studii. Ve výsledcích jsou přehledně rozčleněny jednotlivé části analýz a význam laboratorních výsledků je zhodnocen v diskusi a závěru.

Práci hodnotím velice kladně jak po stránce komplexního řešení problému, rozsahu metod, zpracování výsledků a klinického významu studie.

Výsledky byly publikovány ve dvou impaktovaných zahraničních časopisech. Zmiňována je i možnost pokračování výzkumu v oblasti expresní analýzy genů s aberantní promotorovou metylací pomocí real-time PCR.

Neshledávám žádné nedostatky v uvedené práci a plně doporučuji k obhajobě. Autorka prokazuje schopnosti samostatné vědecké práce a doporučuji ji k získání titulu „PhD“.

V Brně dne 20.8.08

MUDr. Lenka Foretová PhD.

