

Posudek na disertační práci Mgr. Ivany Tiché

Genetické faktory odpovědné za vývoj dědičného karcinomu prsu a ovaria

Předkládaná disertační práce se zabývá závažnou a velmi aktuální tematikou. Jedná se o studium zárodečných mutací řady genů, které se podílejí na vzniku a průběhu dědičného karcinomu prsu a/nebo ovaria. V rámci studia byly analyzovány rozsáhlé přestavby genů *BRCA1/2* a byla charakterizována úloha genů *CHEK2* a *TP53* v tumorogenezi onemocnění.

Téma disertační práce bylo zvoleno vhodně neboť řeší problematiku, která může přispět k odhalení molekulárních mechanismů tumorogeneze. Nejvýraznějším motivem studia je hledání populačně-specifických genetických změn, které by bylo možné využít k identifikaci rizikových skupin populace a následným opatřením cíleným na odhalení nádoru v časném stádiu, eventuálně k zacílení primární prevence.

Hlavní pozitiva disertační práce.

Úvod plní svou funkci tím, že bez zbytečných podrobností uvede čtenáře do studované problematiky, přičemž žádný z důležitých aspektů není vynechán. Předkládá přehledný náhled na problematiku úlohy vysoko a středně penetrujících tumor supresorů ve vzniku karcinomu prsu. Úvod je doplněn řadou názorných obrázků a odkazů na předchozí práce skupiny školitele, který v této oblasti patří mezi špičku.

Cíle práce jsou jasně stanovené, vyplývají z informací v úvodní části a navržený postup je v souladu s moderními trendy výzkumu v této oblasti u nás i ve světě.

Z metodického hlediska práce využila moderní přístupy genetiky, jako jsou identifikace přestaveb metodami komparativní genomové hybridizace na čipu, PCR dlouhých úseků se sekvenováním a fragmentační analýzou DNA, či MLPA (multiplex ligation-dependent probe amplification).

Výsledková část s bohatým grafickým doprovodem ukazuje, že autorka udělala ohromný kus práce. Dvě publikace s vysokým impaktem, na nichž je Mgr. Tichá první autorkou jsou jasným důkazem, že v souladu se správnou vědeckou praxí zvítězila kvalita nad kvantitou. Tyto práce budou, díky své závažnosti, podle mého názoru vysoce citovány. Experimenty byly plánovány a prováděny stylem, který odpovídá současným možnostem špičkového výzkumu. Studie působí harmonicky a je velmi pečlivě vypracována po stránce faktické i formální. Zároveň poskytuje dostatek podnětů k diskusi a zamyšlení nad možnými interpretacemi výsledků.

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

- 1/ identifikace dosud nepopsaných přestaveb v genu *BRCA1*.
- 2/ Nález 3 populačně-specifických (founder) mutací v *BRCA1*.
- 3/ Charakterizace patogenních mutací v ostatních sledovaných genech, především v *CHEK2*.
- 4/ Doporučení ke screeningu studovaných genů s ohledem na typ onemocnění.

Autoreferát je vypracován pečlivě a splňuje svojí funkci.

Kritické připomínky a otázky k autoreferátu i vlastní práci.

1/ Z Metod vyplývá, že byli testováni pacienti především z Prahy a okolí. Zohlednila jste při hodnocení výsledků i skupinu pacientů pocházejících ze vzdálenějších regionů, resp. byly provedeny analýzy souboru čistě pražských pacientů vs. souboru včetně ostatních regionů? Sledovali jste místo narození nebo místo bydliště? Narážím zde na skutečnost, kterou jste zmínila v Úvodu i v Diskuzi a sice rozdíly mezi českými a moravskými pacienty v distribuci mutací *BRCA1/2*, např.: del1-17.

2/ Pro testování byli vybráni pacienti negativní na *BRCA1/2* mutace. Zabývala jste se i myšlenkou zda by pacienti s mutacemi v *BRCA1/2* mohli mít mutace i v dalších studovaných tumor supresech, např.: *CHEK2* nebo *TP53*, tj. byli pacienti pozitivní na *BRCA1* mutace testování i na mutace v ostatních genech?

3/ Jaká je chybovost MPLA, resp. kolik % vzorků ze souboru bylo chybně označeno jako alterované a sekvenace výsledek nepotvrdila? Dělal jste kontrolu MLPA negativních vzorků na přítomnost alterací, např. u vzorků kde byl výsledek blízky cut off, tj. 0,6 resp. 1,4?

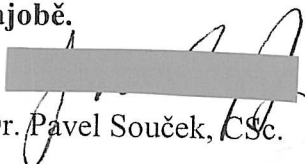
Drobné chyby a překlepy:

- strana 28, řádek 2 odspodu: ... skreeningu ... (screeningu)
- strana 29, řádek 5 odspodu: ... dalších programů. V rozsáhlé ...
- Tabulka 8: délky produktů indikujících del5395 v *CHEK2* neladí s textem na předchozí straně 36, řádek 5-7 odspodu.
- strana 39, řádek 15 shora: ... medián vzdálenosti ... činil ...
- strana 39, řádek 3 odspoda: ... algoritmem ...
- strana 41, věta začínající na řádku 4 nedává smysl – zřejmě došlo k výpadku textu
- strana 42, řádek 10 odspoda: ... mohou ...
- strana 52, řádek 7 odspodu: ... výskytu karcinomu ...
- strana 54, řádek 3 shora: ... 1123 bp ...
- strana 66, řádek 4 shora: ... zachycené ...
- citace 75 by měla správně být: CHEK2 Breast Cancer Case-Control Consortium. (2004) CHEK2*1100delC and susceptibility to breast cancer: a collaborative analysis involving 10,860 breast cancer cases and 9,065 controls from 10 studies. Am J Hum Genet. 74:1175-1182.

Disertační práce splnila svůj účel, protože autorka prokázala schopnost samostatné vědecké práce. Výsledky byly publikovány ve velmi kvalitních odborných časopisech.

Z těchto důvodů doporučuji předloženou práci k obhajobě.

V Praze 22.11.2010


RNDr. Pavel Souček, CSc.