

## Oponentský posudek disertační práce Mgr. Ivany TICHÉ „Genetické faktory odpovědné za vývoj dědičného karcinomu prsu a ovaria. Rozsáhlé přestavby v genech *BRCA1* a *BRCA2*“

---

Disertační práce Mgr. Ivany Tiché se zabývá vysoce aktuální problematikou, která významně přispívá k rozvoji několika biomedicínckých vědních disciplin. Konkrétně především molekulární biologie a patobiochemie. Cílem práce bylo charakterizovat změny v genech, o kterých je znám jejich význam pro potenciální riziko vývoje nádorových onemocnění (především karcinomu prsu a ovaria). Úkolem bylo charakterizovat změny v těchto genech a frekvence jejich výskytu, a to v populaci České republiky, konkrétně populace žijící v Praze a pražské aglomerace. V disertační práci autorka analyzovala rozsáhlé delece a přestavby genů *BRCA1* a *BRCA2* ve skupině pacientek s karcinomem prsu nebo ovaria. Ty byly analyzovány pomocí metod vycházejících z PCR amplifikací genových fragmentů, a to z hlediska přítomnosti různých typů mutací. Konkrétně typů mutací jako jsou bodové mutace, krátké inserce či delece. K tomu byla využita především metoda MLPA (Multiplex ligation-dependent probe amplification), metody PCR a sekvenování. Analýza byla provedena u souboru s dostatečným počtem pacientek (586 vysoce rizikových pacientek), získané výsledky jsou tedy významné, aplikovatelné na ještě větší populační skupinu v naší republice. U pacientů stejného souboru byla též analyzována úloha genů *TP53* a *CHEK2* v patogenezi dědičného karcinomu prsu. Z výsledků práce vyplývá, že přestavby představují významnou část mutací genu *BRCA1* a mohou tedy sloužit ke klinické diagnostice. Nutná je však analýza i dalších predispozičních genů (vedle *BRCA1* též *BRCA2*, *TP53*, *CHEK2* a *ATM*). Výsledky takových analýz u pacientů s karcinomem prsu nebo ovaria pak mohou sloužit pro predikci k testování dalších příslušníků rodin pacientů. U osob, u kterých pak bude zjištěno zvýšené riziko onemocnění, se poté lze zaměřit na včasnou diagnostiku a preventivní zásahy. Ze zjištěných výsledků tedy vyplývá, že práce nemá význam pouze teoretický, důležitý pro rozvoj výše uvedených vědních disciplin. Její význam tkví i v praktickém medicínském využití. Z tohoto stručného výčtu jednoznačně vyplývá, že studie, která byla předmětem disertační práce Ivany Tiché, byla velmi komplexní a, dle mého názoru, řešená na špičkové úrovni.

Význam výsledků získaných v průběhu vypracování disertační práce podtrhuje úspěšnost publikačních aktivit Ivany Tiché. Výsledky práce byly publikovány ve dvou původních vědeckých pracích v časopisech s vysokými hodnotami impaktového faktoru (5.684 a 2.740) a formou příspěvků na vědeckých konferencích. Mgr. Ivana Tichá je první autorkou v obou

dvou publikovaných originálních pracích, což ilustruje její vysoký podíl na těchto publikacích. Výsledky práce tedy prošly řadou náročných recensních řízení a není k nim téměř co dodat. To vše ilustruje, že kolegyně Tichá dosáhla skutečně úctyhodných výsledků, a že zvolené téma disertační práce jí řešené je opravdu aktuální.

Z disertační práce je patrné, že autorka je i zdatnou experimentátorkou, která ovládá slušnou paletu experimentálních metod užívaných ve špičkovém výzkumu. Vysoká metodická úroveň experimentální práce pak byla zárukou pro získání hodnotných výsledků, které významně rozvíjejí základní teoretické poznání. Výsledky disertační práce Ivany Tiché, dle mého názoru, plně odpovídají vytčeným cílům. Práce přináší původní vědecké výsledky, které byly, jak již bylo uvedeno, publikovány. Z práce je zcela patrné, že autorka pracovala v badatelském týmu špičkové vědecké úrovně, což tvoří významný předpoklad i pro její další odborný růst.

Disertační práce Mgr. Ivany Tiché sestávající z textu čítajícího 94 stran, je jak po stránce formální tak i obsahové velmi pěkně vypravena. Výsledky jsou presentovány srozumitelně a bohatě dokumentovány ilustrativními grafy. I když již výsledky byly většinou publikovány, je psána klasickým způsobem, používaným pro doktorské disertační práce (Teoretický úvod, Pracovní hypotéza a cíle studie, Materiál a metody, Výsledky, Diskuse a Závěr). Získané výsledky jsou v disertační práci adekvátně hodnoceny a tvoří vysoce hodnotný základ pro rozvoj vědeckého bádání v této oblasti i do budoucna. Textu bych pouze vyčetla používání některých „aglicismů“ a laboratorních slangových výrazů (např. str. 11 – *nasyntetisovaných*, str. 14 a dále – *missense* mutace, str. 14 – *kódující DNA doménu*, str. 15 a dále – *founder* mutace, str. 19 a dále – *nonsense* mutace, str. 25 a dále – *MLPA metoda* – raději metoda MLPA, str. 25 – *primery ohraničený amplifikovaný fragment*, str. 28 – *próby, skreeningu* – včetně písmene *k* ve tomto slově, str. 31 – *probada*, str. 44 – *naředěny* .....). V textu psaném v češtině doporučuji příslušné termíny buď vyjádřit jiným slovem nebo je uvést v uvozovkách. Tyto formální nedostatky jsou však pouhé drobnosti, které nikterak nesnižují vysokou úroveň předkládané disertační práce.

K práci mám následující dotazy, které slouží především jako podklad pro následnou diskusi.:


- 1) Používali jste při izolaci RNA, a při práci s ní, inhibitory ribonukleas? Jestli ano, které? Na jakém mechanismu jsou založeny inhibiční účinky inhibitorů těchto enzymů?
- 2) Jak je již výše uvedeno, analýza predispozičních genů má velký význam pro adekvátní léčbu či pro včasnou diagnostiku. I když práce pojednává o analýze změn v uvedených

genech, bez predikce dalších konsekvencí, zajímalo by mě, jestli je známa změna v biochemické funkci produktů alterovaných genů.

### Závěr

Disertační práce Mgr. Ivany Tiché je velmi kvalitní vědeckou prací. Dle mého názoru práce rozhodně splňuje požadavky kladené na disertační práce obdobného typu. Přináší původní vědecké výsledky, které již také byly publikovány. Práci plně doporučuji k přijetí k obhajobě. Disertační práce prokazuje předpoklady Mgr. Ivany Tiché k samostatné tvořivé vědecké práci. Doporučuji proto, aby byl na základě úspěšné obhajoby předložené práce Ivaně Tiché udělen, dle § 47 Zákona o vysokých školách č. 111/98 Sb., akademický titul doktor, ve zkratce **Ph.D.**, za jménem.

V Praze, 14.11.2010

  
Prof. RNDr. Marie Stiborová, DrSc.  
katedra biochemie, Přírodovědecká fakulta UK