

Oponentský posudek
disertační práce

Mgr. Elišky Václavíkové

Genetické příčiny medulárního karcinomu štítné žlázy a Hirschsprungovy choroby

Disertační práce k získání vědecké hodnosti Ph.D. v oboru Biochemie, kterou předkládá Mgr. Eliška Václavíková, má 108 stran a 16 příloh, kterými jsou vyšlé publikace na téma disertace, jichž je Mgr. Václavíková spoluautorem. Jde o 7 prací v domácí literatuře a 9 publikací v impaktovaných časopisech (sumární IF 21,713). První autorkou je disertantka v uvedených šestnácti pracích třikrát (sumární IF 8,122). Přehled autorčiných publikací a abstrakt svědčí o tom, že její práce jsou přijímány k uveřejnění v nejprestižnějších časopisech daného oboru a že její výsledky ve formě přednášek nebo posterů (22 x) prošly kritikou i uznáním na zahraničních konferencích a sjezdech. Cíle práce jsou jasně formulovány a zahrnují v sobě i hypotézu, že polymorfismy v *RET* proto-onkogenu jsou modifikujícími faktory v patogenezi dvou klinicky zcela odlišných onemocnění, medulárního karcinomu štítné žlázy a Hirschsprungovy choroby. Cílem pak byla detekce genetických aberací *RET* proto-onkogenu a porovnání s fenotypickými projevy u pacientů s uvedenými onemocněními.

Vlastní disertační práce je doprovázena autoreferátem, který v plné míře vyhovuje formálním i věcným nárokům, které jsou pro autoreferáty předepsány ve smyslu zákona o vysokých školách.

Disertační práce metodicky využila široký aparát technik používaných v diagnostice a výzkumu geneticky podmíněných onemocnění. Výsledky byly zpracovány klasickými statistickými metodami.

Je třeba uvést, že v diagnostice medulárního karcinomu štítné žlázy hrálo dlouho hlavní roli stanovení stimulovaného kalcitoninu. Pro rodinné příslušníky zahrnuté do screeningu to však bývalo spojeno s dlouhodobě opakovanými odběry a údaje o kalcitoninu nedávaly informaci o jemnějších rozdílech průběhu onemocnění ani o jeho prognóze. U Hirschsprungovy nemoci neexistoval žádný prakticky použitelný biochemický marker. Naproti tomu stanovení zárodečné mutace *RET* proto-onkogenu dovoluje jednoznačně a trvale vyloučit z další dispenzarizace některé rodinné příslušníky pacientů s medulárním karcinomem (MTC), kteří

postižení nejsou. Pestrá paleta existujících mutací pak dovoluje přiřazovat k nim odlišné průběhy onemocnění (např. sporadický nebo familiární MTC, mnohočetnou endokrinní neoplázií 2A nebo 2B) a využít je i k určitým prognostickým závěrům.

Ke splnění uvedených cílů bylo v první studii vyšetřeno 490 rodin s výskytem MTC, kde byl záchyt zárodečné mutace zjištěn u 60 primárních pacientů, ale také u 73 rodinných příslušníků, do té doby bez známek onemocnění. Bylo zaznamenáno několik mutací spojených se zvlášť zajímavými kasuistikami a za zvláštní pozornost zasluhující byla označena mutace Tyr791Phe v 13. exonu *Ret* proto-onkogenu. Významné výsledky přinesla i genetická analýza 159 pacientů s recidivou sporadického medulárního karcinomu štítné žlázy, kde byly vytipovány alely s protektivním charakterem i alely související s horší prognózou průběhu onemocnění.

Přes naprostou klinickou odlišnost má Hirschsprungova choroba s MTC společné některé rysy – u obou nemocí jde o neurokristopatie a *RET* proto-onkogen je důležitým faktorem. Zatímco u MTC působí mutace *RET* proto-onkogenu aktivačně, u Hirschsprungovy nemoci je jeho působení inaktivační. Od r. 1993 bylo u této choroby zjištěno množství alterací *RET* proto-onkogenu; někdy se objevují současně aktivační i inaktivační alterace a pak může být intestinální onemocnění spojeno s familiárním MTC nebo MEN 2. Takové duální *RET* mutace se podařilo autorce zjistit u 3 případů s celkem 214 pacientů s Hirschsprungovou chorobou. Na rozdíl od MTC genetický screening není u Hirschsprungovy nemoci běžně zaváděn a i tam, kde existuje, je širší genové analýzy menší. Proto patří autorskému kolektivu také zásluha o důkladnější a metodicky širší genovou analýzu tohoto onemocnění. Ve výsledcích jsou pozoruhodné právě duální alterace a pak také vysoká frekvence nálezu mutací Tyr 791Phe na 13. exonu, o kterých však zatím nepanuje shoda ohledně jejich duální funkce a tedy i o způsobu léčby nebo dalšího sledování.

Lze konstatovat, že Mgr. Eliška Václavíková výrazně přispěla k poznání genetických příčin dvou závažných život ohrožujících onemocnění a rozšířila současné znalosti o souvislosti různých genetických alterací s průběhy a prognózou těchto chorob.

Formální poznámku mám jen jedinou:

Vlastní publikace uváděné jako zdrojové pro disertaci jsou v disertaci odlišné svým počtem od seznamu v autoreferátu.

Disertace je jinak psána velice pečlivě, chyby jsem nenašel ani v seznamu citované literatury, kde obvykle oponent důvod k nějaké připomínce nachází.

Dotaz mám jediný: jaké další faktory považuje disertantka za důležité k vysvětlení skutečnosti, že jeden typ mutace může mít za následek různý typ onemocnění (např. podle Tab. 13 mutace Tyr791Phe na exonu 13 byla zjištěna u sporadického MTC 3x, u familiárního MTC 2x a u MEN 2A MEN2B jednou)?

Na str. 60 a v celkovém Závěru na str. 81 uvádí disertantka, že znalost konkrétní mutace je stěžejní pro výběr vhodného tyrozinkinázového inhibitoru pro další léčbu, ale blíže není tato otázka řešena – jaké somatické mutace a jaké tyrozinkinázové inhibitory v tomto smyslu k sobě patří?

Závěr

Celkově hodnotím odborný profil autorčin jako výsledek nesporné snahy po poznání, energie vynaložené k dosažení výsledků a cílevědomosti, s kterou na tématu pracovala. Dosáhla mimořádných vědeckých výsledků a výsledky zveřejnila a zpřístupnila je tak odborné kritice. Disertační spis je dokladem systematické, poučené a cílené metodické práce, kterou autorka získala teoreticky inspirující a prakticky využitelné původní vědecké poznatky. Projevila se jako pracovnice schopná samostatné vědecké práce a výsledkem její odborné činnosti jsou i poznatky, které by měly být podnětem pro další výzkum.

Disertace pojednává o aktuálním tématu, experimentální přístup využívá nejmodernější a adekvátní metody, práce splnila vytčené cíle, přináší nové poznatky a je významná nejen pro rozvoj endokrinologie genetiky, ale i pro další příbuzné vědní obory. Prokazuje pak, že její autorka je dobře připravena pro samostatnou vědeckou práci.

Předložená disertační práce tedy plně splňuje podmínky zákona o vysokých školách požadované pro úspěšné ukončení doktorského studijního programu v biomedicíně, a proto ji doporučuji přijmout k dalšímu řízení pro udělení vědeckého titulu Ph.D. v oboru biomedicínských věd - Chemie.

V Praze 17. července 2015



Prof. MUDr. RNDr. Luboslav Stárka, DrSc.