

OPONENTSKY POSUDEK

disertační práce "*Srovnání morfologie, exprese, epigenetických změn a mutací HNF1B v solidních nádorech a nenádorových lézích*"

Autor: MUDr. Michaela Bártů

Předložená disertační práce má tradiční členění. Úvod je zaměřen na popis charakteristik hepatocytárního jaderného faktoru 1 beta (HNF1B) a jeho role v ontogenezi, popsána je i jeho exprese v nenádorových adultních tkáních a jeho předpokládané role v kancerogenezi. Dále jsou uvedeny charakteristiky genu *HNF1B*, jeho sestřihové varianty a přehled germinálních a somatických mutací. Šířeji je popsána i imunohistochemická exprese HNF1B u vybraných solidních nádorů. V následujícím vymezení cílů práce jsou jako hlavní uvedeny imunohistochemická analýza exprese proteinu HNF1B a mutační a metylační analýza genu *HNF1B* v širokém spektru nádorů tlustého střeva, ledvin, ovaria a nenádorových a nádorových lézí prostaty. Získané výsledky měly být využity k upřesnění role HNF1B v patogenezi uvedených nádorů a k možnému použití jeho detekce v diferenciatní diagnostice a predikci onemocnění.

V oddílu Materiál a metody jsou podrobně popsány charakteristiky vyšetřovaných tkáňových vzorků a použité metody imunohistologické a molekulárně biologické, které byly zaměřeny na detekci mutací všech kódujících oblastí *HNF1B* s přilehlými intronovými sekvencemi a hlubokými intronovými sekvencemi obsahujícími vybrané jednonukleotidové polymorfismy. Dále byla sledována i metylace CpG ostrůvků v oblasti *HNF1B* promotoru.

Výsledková část práce je značně obsáhlá, uvádí imunohistologické nálezy exprese HNF1B ve všech sledovaných skupinách nádorů a zjištěné spektrum genových alterací a epigenetických změn. Pozoruhodná je značná variabilita exprese HNF1B, který u většiny nádorů vykazoval znaky tumor supresoru, ale u papilárního karcinomu ledviny se choval spíše jako protoonkogen. K dalším významným výsledkům patří zjištění nízké exprese HNF1B u karcinomů tlustého střeva, která je i negativním prognostickým ukazatelem; s horší prognózou onemocnění je spojen i GG fenotyp rs447096. U hodnocených nádorů ledvin bylo zjištěno, že u světlobuněčného karcinomu klesá exprese HNF1B s rostoucím gradem. Naopak u ovariálního HGSC byla vyšší exprese HNF1B asociovaná s lymfovaskulární invazí. U karcinomu prostaty byla metylace promotoru spojená s vyšším Gleasonovým skóre a s větší lokální progresí nádoru

(vyšším T stádiem). K prioritním nálezům patří identifikace dosud nepopsané somatické nonsense mutace genu *HNF1B* u high-grade serózního karcinomu ovaria.

V připojeném seznamu literárních referencí je uvedeno 121 odkazů na převážně recentní odborné články.

K předložené práci nemám žádné výhrady. Téma je nesporně aktuální, jak rozsah práce, tak široké spektrum použitých metod jsou nadprůměrné. Výsledky byly publikovány v mezinárodních odborných časopisech s IF, seznam těchto publikací je v práci uveden, tři z nich jsou in extenso v příloze.

K předložené práci mám jen několik formálních připomínek:

1. Metody – imunohistologie: preparáty nejsou protilátkami barveny, správnější je použít výraz „pro imunohistologickou vizualizaci *HNF1B* byla použita polyklonální protilátka...“
2. Místo „embryologický/á“ (vývoj, diferenciace) mělo být použito „embryonální“.
3. „Ontogenetický vývoj“ je pleonasmus, ontogeneze je vývoj individuálního organismu.
4. Nedůsledně je v textu používán trpný rod (místo „je prozkoumaná“ nebo „jsou zaznamenávané“ má být „je prozkoumána“; „jsou zaznamenávány“).

Otázky:

1. Nejednoznačně je uveden význam hodnocení exprese *HNF1B* pro odlišení chRCC a renálního onkocytomu. Na str. 60 je uvedeno, že mezi všemi čtyřmi typy analyzovaných nádorů ledvin byly významné rozdíly v intenzitě IHC exprese *HNF1B* a na téže straně je toto uvedeno i v Tabulce 10. Na str. 79 je ale konstatováno, že „Naše výsledky IHC exprese *HNF1B* u těchto dvou skupin nádorů po provedení *post-hoc* testů nicméně nedosáhly statistické významnosti“. Na str. 93 je znovu uvedeno, že „v rámci diferenciální diagnostiky je na IHC úrovni hlavní význam hodnocení exprese *HNF1B* u nádorů ledvin, zejména v oblasti odlišení chRCC od renálního onkocytomu“. Prosím o vysvětlení.
2. Na str. 92 je uvedeno, že by zjištění metylace promotoru *HNF1B* mohlo představovat slibný marker pro časnou detekci HGSC ovaria. Zároveň je konstatováno, že jde o nádor s velmi nenápadnými a nespecifickými klinickými symptomy. Zajímalo by mě, z jakých vzorků by vyšetření probíhalo.

Závěr:

Práce splňuje jak po stránce obsahové, tak po stránce formální, všechna přijatá kritéria, přináší významné poznatky o roli *HNF1B* v kancerogenezi a o možném použití jeho IHC detekce pro

upřesnění diagnózy a prognózy studovaných nádorů.

Autorka prokázala, že je schopna vědecké problémy formulovat a samostatně řešit a že má všechny předpoklady k další samostatné tvořivé vědecké práci. Disertační práci hodnotím jednoznačně kladně a doporučuji ji k obhajobě. Zároveň doporučuji, aby byl autorce předložené práce po úspěšně provedené obhajobě udělen titul „Ph.D.“ za jménem.

Praha, 16. 5. 2021

Prof. MUDr. Václav Mandys, CSc.

Ústav patologie UK-3. LF a FNKV

Šrobárova 50

100 34 Praha 10