



Posudek na dizertační práci Mgr. Lenky Stolařové

Analyza nádorové predispozice a funkční analýza variant nejasného významu

Předkládaná dizertační práce se zabývá cílenou analýzou genetických alterací, podezřelých z příspěvku k rozvoji nádorových onemocnění, metodou sekvenování nové generace. Hlavním motivem práce bylo zpřesnit interpretaci nálezů pro jejich využití v predikci rizika vzniku nádorů prsu, ovaria a melanomu. Za tímto účelem byla provedena studie funkčního významu variant nejasného významu u jednoho z hlavních predispozičních genů – *CHEK2*. Pomocí nově zavedeného modelového systému s deletovaným *CHEK2*, kam byly introdukovány metodou CRISPR/Cas9 vybrané varianty genu, autorka provedla funkční klasifikaci variant, která má zásadní přínos k rozlišení benigních a patogenních variant u české populace. Navíc byl tento způsob hodnocení implementován mezinárodním konsorciem ENIGMA. Všechny cíle dizertace jsou originální a práce přináší řadu unikátních poznatků především v oblasti preventivní medicíny, molekulární onkologie a genetiky. Vědecky se práce zabývá závažnou problematikou a lze tedy konstatovat, že téma dizertační práce bylo zvoleno vhodně a v souladu s nároky kladenými na doktorské studium.

Práce je sepsána komentovanou formou a rozdělena do sekcí Východiska a cíle práce, Úvod, Metody, Seznam publikací, Komentář k vybraným publikovaným pracím, Diskuze, Závěr, Literatura a Přílohy. V přílohách jsou uvedeny výřizky 6 odborných prací, publikovaných v časopisech s impakt faktorem, které jsou v dizertační práci komentovány.

Dva hlavní cíle práce jsou jasně vymezené v první kapitole a podložené rozbořem situace v oblasti genetického testování predispozice u hereditárních malignit. Cíle práce jsou v souladu s moderními trendy výzkumu u nás i ve světě a představují důležitý příspěvek k dalšímu rozvoji preventivní medicíny v oblasti predikce rizika vzniku nádorových onemocnění.

Úvod poskytuje čtenáři stručný, ale ucelený a zcela postačující přehled ve studované problematice. Tato část působí velmi konsistentně a nejsou vynechány žádné podstatné informace pro pochopení cílů práce a jejího dalšího postupu.

Metodicky jsou všechny práce na vysoké úrovni a výsledky studia značně rozšiřují oblast poznání či přináší nová zjištění v oboru. Doktorandka je první autorkou tří ze šesti publikací, z nichž jedna je přehledným článkem. Práce s jejím prvoautorstvím nebo spoluautorstvím mají celkový impakt faktor přesahující 27, což značí obdivuhodnou publikační aktivitu a velmi pravděpodobně i vysoký následný ohlas. V Komentáři autorka specificky deklaruje svůj přínos ke vzniku všech prací v jednotlivých činnostech a vysoký podíl na prováděných experimentech a jejich hodnocení i draftování manuskriptů je dalším důkazem velkého množství práce, které kolegyně na této práci vykonala.

Diskuze velmi čtivou formou pojednává o historii a motivech pro tuto práci a podrobně rozebírá dosažené výsledky a zejména jejich význam pro moderní prediktivní onkologii. Velmi oceňuji jazyk a formu, kterou je tato část sepsána. Ukazuje na velkou vyzrálou autorku.

Závěry odpovídají dosaženým výsledkům. Mezi hlavní výsledky patří:

- 1/ Identifikace genetických alterací u velkého počtu pacientů s nádorovým onemocněním a zavedení panelu CZEKANCA do klinické praxe.
- 2/ Vývoj dalšího sekvenačního panelu CZMELAC pro predikci rizika rozvoje maligního melanomu.
- 3/ Vytvoření, optimalizace a využití unikátního modelového systému pro hodnocení patogenity téměř 300 vybraných variant v genu *CHEK2* sledováním fosforylační a autofosforylační aktivity proteinu.
- 4/ Dalším významným přínosem doktorské práce je spolupráce s mezinárodním konsorciem pro interpretaci zárodečných mutací ENIGMA a propagace české vědy začleněním výše popsaného přístupu do systému hodnocení patogenity variant.

Dizertace působí harmonicky a je pečlivě vypracována po stránce faktické i formální. Zároveň práce poskytuje dostatek podnětů k diskusi a zamyšlení nad možnými interpretacemi výsledků a budoucím vývojem v oboru. Autoreferát rovněž splňuje předepsané požadavky.

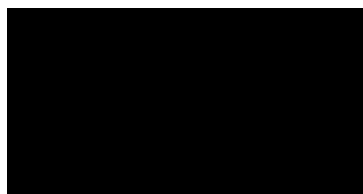
Komentáře a otázky k vlastní práci

Všechny práce přiložené k dizertaci byly recenzovány renomovanými odborníky, tudíž následující dotazy slouží spíše k podpoření diskuze a širšího náhledu do uvedené problematiky.

- 1/ Čím si vysvětlujete výrazně nižší podíl mutací v predisponujících genech, např. *BRCA1/2* u pacientek s karcinomem ovaria mladších 40 ve srovnání s těmi nad 40 let? Narazili jste na takovýto jev i u jiného nádoru, např. karcinomu prsu?
- 2/ Zajímalo by mne proč se, dle vás, patogenní missense mutace v *CHEK2* nalezené u kontrolních subjektů dosud neprojevíly rozvojem malignit.
- 3/ Jak interpretujete nálezy více než jedné mutace v predisponujících genech u jednoho probanda?

Dizertační práce, dle mého názoru, splňuje nároky kladené na doktorské studium a udělení titulu Ph.D., protože autorka prokázala schopnost samostatné vědecké práce. Výsledky byly publikovány v odborných časopisech s impakt faktorem a zásadním způsobem rozšiřují poznání v molekulární onkologii. Z těchto důvodů doporučuji práci k obhajobě.

V Praze dne 12. 8. 2021



Vypracoval: doc. RNDr. Pavel Souček, CSc.