

Oponentský posudek dizertační práce

Název práce: Identifikace dědičných faktorů ovlivňujících vznik karcinomu pankreatu a dalších solidních tumorů

Jméno autora: Mgr. Jan Král; 1. LF UK; Studijní obor Biochemie a patobiochemie

Předložená dizertační práce se zabývá identifikací a analýzou zárodečných variant u dvou významných nádorových onemocnění – ductálního adenokarcinomu pankreatu, což je poměrně časté nádorové onemocnění, které se vyznačuje velmi špatnou prognózou a dále skupinou děložních nádorů, jejichž nejčastější zástupce, karcinomy endometria, jsou typické velmi vysokou incidencí, zvláště pak ve vyspělých zemích. Předmětem a cílem předkládané práce je především mutační analýza známých predispozičních a kandidátních genů pomocí panelového sekvenování nové generace (NGS) a to u souboru pacientů s danými onemocněním a souboru populačně specifických kontrol z ČR. Dále pak kalkulace rizik a srovnání klinicko-patologických charakteristik u nosičů detekovaných patogenních variant a zhodnocení indikačních kritérií pro germinální testování v případě pacientů s karcinomem endometria.

Práce je členěna obvyklým způsobem, rozsah kapitol je přiměřený a jednotlivé kapitoly na sebe logicky navazují. Součástí práce jsou dobře zpracované obrázky a tabulky, obsáhlý seznam použité literatury, prvoautorská publikace v prestižním zahraničním časopise a prvoautorský manuskript přijatý do recenzního řízení. Celkově je práce sepsána přehledně a srozumitelně s minimem překlepů. Z formálního hlediska nemám k práci výraznější výhrady.

Z pohledu obsahu pak v teoretickém úvodu oceňuji dobře a věcně popsané kapitoly nádorové transformace, oprav DNA a kapitoly věnující se patogenezi a epidemiologii výše jmenovaných nádorových onemocnění. Jedinou výtku bych měl k autorově tvrzení, že podíl mutací genu *STK11* v procesu kancerogeneze je dosud neobjasněn, což je založeno na zdroji z roku 2009. Kromě tohoto jsou v práci obecně použité zdroje aktuální a vhodně vybrány.

Metodická část je dobře a věcně popsána, ke kapitolám věnujícím se NGS pomocí ověřeného a dobře fungujícího panelu CZECANCA, analýze dat a vyhodnocení nemám připomínek. Metodická část může snadno sloužit jako laboratorní protokol a příklad zlatého standardu NGS sekvenování zárodečných variant.

Připomínku mám v části přehledu souboru pacientů s endometriálním karcinomem, a to k histologii děložních malignit a procentuálnímu vyjádření jednotlivých podskupin. Autor uvádí, že do souboru bylo zahrnuto celkem 527 pacientek s děložní malignitou, nejčastěji zastoupenou endometriálním karcinomem. Dále v textu uvádí, že těchto pacientek je 89,7 %. Avšak v Tabulce 5 s klinicko-patologickými charakteristikami souboru je uvedeno, že z celkem 527 vyšetřovaných pacientek je pouze 349 pacientek s diagnostikovanými různými typy karcinomu endometria, což při přepočtu vychází na 66 %. Dále je pak do vyšetřovaného souboru přidáno 40 pacientek s různými typy sarkomů dělohy (8 %) a 138 pacientek s blíže neurčeným maligním nádorem těla děložního (26 %). Tato nejasnost ohledně složení vyšetřovaného souboru je zavádějící a měla by být důrazněji vysvětlena včetně důvodů, proč byly do skupiny zařazeny i relativně vzácná sarkomová onemocnění dělohy a malignity s nejasnou histopatologií.

Ve výsledkové části jsou detailně popsány a charakterizovány nalezené patogenní varianty v predispozičních a kandidátních genech pro jednotlivá vyšetřovaná onemocnění a kontrolní skupiny.

Nechybí korelace s klinicko-patologickými daty, popsáním případných nádorových duplicit u pacientů a porovnání s aktuálními indikačními kritérii pro zárodečné testování. Důkladná diskuze výsledků a jejich srovnání s aktuální literaturou pak uzavírá hlavní část předkládané práce a podtrhuje její celkovou kvalitu.

Na autora dizertace pak mám následující otázky:

1. Proč byly do souboru „endometriálních karcinomů“ zařazeny i sarkomy dělohy, což je velmi heterogenní skupina s odlišným původem i projevem tumorigeneze, a dále vzorky s nejasným maligním nádorem těla děložního? Nezkresluje zařazení těchto vzorků do souboru výsledky a vypočítaná rizika u detekovaných patogenních variant?
2. V textu práce je zmiňována pozdní diagnóza u většiny případů duktálních adenokarcinomů pankreatu zapříčiněná obvykle absencí příznaků v rané fázi onemocnění a nedostupností citlivých screeningových či zobrazovacích metod. Toto má pak jednoznačně negativní vliv na možnosti léčby v pozdějších fázích, hlavně možnosti chirurgického zásahu. Jak by mohla včasná identifikace nosičů patogenní varianty v genu predisponujícímu k tomuto onemocnění přispět k časně diagnóze a tím k úspěšné léčbě?
3. V souboru EC byly detekovány a diskutovány trunkační varianty v genech *POLE* a *POLD1*. V literatuře jsou popisovány především somatické „heterozygotní“ missense varianty, které jsou spojeny s fenoménem hypermutovaného genomu z důvodu zasažení domény zodpovědné za proofreadingovou aktivitu (což je v práci správně diskutováno). Dle databáze ClinVar jsou některé trunkační varianty, (např. ClinVar ID 469384) anotovány jako VUS a dle některé dostupné literatury (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7708298/>) jsou trunkační varianty v těchto genech hodnoceny taktéž jako VUS nebo dokonce jako benigní. Jaký mechanismus nebo ovlivnění procesu kancerogeneze by se u nosičů trunkačních variant v těchto genech dal očekávat?
4. Dle popsané metodiky byly varianty detekované pomocí NGS confirmovány pomocí Sangerova sekvenování či MLPA. Existují v rámci dané práce varianty, které nebyly těmito konfirmačními přístupy potvrzeny? Jaké to případně byly a kolik jich cca bylo? Osobně bych očekával úplné minimum.

Závěrem mohu konstatovat, že cíle této práce byly splněny a výsledky práce významně přispívají k aktuálnímu vývoji doporučení pro germinální testování pacientů a dalších rizikových osob u těchto onemocnění v ČR. Vzhledem k celkově vysoké kvalitě projektu a jeho provedení hodnotím předkládanou práci jako vysoce aktuální a přínosnou. Předložená dizertace splňuje všechny kladené požadavky a prokazuje schopnost uchazeče k samostatné vědecké práci. Z těchto důvodů doporučuji práci k obhajobě a udělení akademického titulu „Ph.D.“ uváděným za jménem.

V Praze dne 5. dubna 2023

RNDr. Jan Hojný, Ph.D.

Ústav patologie, 1. LF a VFN v Praze
Studničkova 2, Praha 2, 128 00

