



Posudek na doktorandskou dizertační práci MUDr. Ondřeje Havránka v rámci doktorského studijního programu v biomedicině v oborové radě Fyziologie a patofyziologie člověka

Práce MUDr. O. Havránka:

GENETIC FACTORS IN LYMPHOPROLIFERATIVE MALIGNANCIES
Focus on *CHEK2* gene in lymphomas with comparison to distinct solid tumors

se zabývá především studiem dědičných faktorů, které se podílejí na vzniku Hodgkinských a non-Hodgkinských lymfomů. Na základě rozboru literatury a s ohledem na výsledky školícího pracoviště položil hlavní zřetel na analýzu nízko penetrujícího genu *CHEK2* kódující proteinkinázu CHK2 – důležitý převaděč signálu v odpovědi na přítomnost dvouřetězcových zlomů v DNA a jejich reparaci. K tomu připojil rozbor polymorfního kodonu 72 genu *p53* jako ukazatele genetické stability.

Metodicky jsou analýzy *CHEK2* genu i vybrané oblasti genu *p53* obsahující polymorfni kodon 72 postaveny na analýze PCR ampliconů pomocí denaturační vysokotlaké kapalinové chromatografie (DHPLC). Výsledky analýz celkového počtu několika tisíc vzorků dokazují, že MUDr. O. Havránek tuto technologii zvládl dokonale. Zatímco analýza v souboru 298 pacientů s Hodgkinskými lymfomy a v souborech s vybranými solidními tumory (karcinomy prsu, kolorekta a prostaty) se soustřeďuje pouze na vybrané oblasti *CHEK2* genu, vyšetření souboru 340 nemocných s non-Hodgkinským lymfomem zahrnuje kompletní analýzu všech 14 exonů genu *CHEK2* s přiléhajícími intron-exonovými přechody doplněnou nadto analýzou intragenových delecí/duplikací pomocí techniky MLPA a následnou chromosomálně specifickou analýzou pomocí array komparativní genomové hybridizace. Všechny analýzy jsou doplněny sekvenační konfirmací nalezených alterací, počítačovými predikcemi fenotypových projevů nalezených genových změn a rozsáhlou a hodnotnou statistickou analýzou výsledků s korelací s klinickými údaji.

Práce je klasicky řazena a zahrnuje úvod do problematiky (22 stran), cíle práce, metodickou část s popisem použitých přístupů a charakteristik vyšetřovaných souborů (13 stran), výsledky (22 stran) a diskusi (7 stran). Úvodní část a závěrečná diskuse obsahují převahu z přiměřeného množství vhodně zvolených 171 literárních odkazů dokazujících autorovu velmi dobrou orientaci ve zpracovávané problematice. Výsledky analýz jsou v předkládané disertační práci dokumentovány ilustrativní obrazovou dokumentací čítající 22 obrazových panelů a shrnutími v podobě 18 tabulek. Příjemné je nevynechání jejich separátního seznamu (str. 70-73) na konci textu, které umožňuje rychlou orientaci. Za standardní považuji seznam zkratk, který je v oblasti prací z molekulární biologie nezbytností. Disertační práce obsahuje rovněž plnotextovou přílohu šesti publikací z toho pěti v impaktovaných



Ústav molekulární genetiky AV ČR, v.v.i.

časopisech s úhrnným IF=15,411, kde MUDr. Havránek je 2x prvním autorem a 3x děleným prvním autorem.

Práce je napsána ve velmi čtivé angličtině, čímž se autor obratně vyhnul časté námitce o nadužívání anglikanismů v česky psaných disertačních pracích.

Připomínky a dotazy na autora:

- V AIMS na str. 27 po odkazu na „based on our previous work“ chybí odkazy na literaturu: 155, 161
- Práce Havránek et al. uvedená v Appendix II již vyšla v Leukemia Research.
- U práce uvedené v Appenedix V chybí informace o IF=2.056.
- Přes nesporně nadstandardní publikované výsledky ve výčtu publikovaných prací postrádám výsledky analýzy celé kódující oblasti CHEK2 genu u pacientů s non-Hodgkinskými lymfomy. Proč?
- Za zajímavý výsledek lze považovat asociaci intronové varianty IVS1+43dupA s významně příznivější prognózou onemocnění (OS, PFS; str. 46) u pacientů s non-Hodgkinskými lymfomy - např. téměř 50% rozdíl v PFS u všech analyzovaných pacientů (IVS1+14dupA wt vs. recesivní homozygot; Fig12 A). Předpokládá autor klinické využití této varianty a příp. jaký navrhuje další postup pro validaci prognostické hodnoty této alterace?

Závěr:

Výsledky práce přinášejí původní pilotní zhodnocení významu alterací v genu *CHEK2* v reprezentativních souborech nemocných s lymfomy v ČR a jejich srovnání s výskytem u vybraných solidních tumorů. Perspektivně klinicky zajímavá asociace IVS1+43dupA s lepší prognózou díky vysoké frekvenci tohoto polymorfismu v české populaci je faktickým přínosem i když si ještě vyžaduje další klinické ověření. Rozbor PT53 R72P polymorfismu ukázal, že R72P velmi pravděpodobně nemá vliv na riziko získání a i přežití lymfomu v české populaci.

Jelikož byly splněny vytčené cíle práce, doporučuji disertační práci MUDr. Ondřeje Havránka k obhajobě s následným udělením titulu Ph.D.



MUDr. Pavel Veselý, CSc.
Ústav molekulární genetiky AV ČR v.v.i.