

Oponentský posudek na dizertační práci Mgr. Veroniky Brynychové

Studium úlohy genetických faktorů v prognóze a predikci účinku chemoterapie u pacientek s karcinomem prsu

Školitel: doc. RNDr. Pavel Souček, CSc., Univerzita Karlova, 3. Lékařská fakulta

Předmět dizertační práce

Předkládaná dizertační práce se zabývá aktuální tematikou hledání prognostických a prediktivních markerů pro pacientky s karcinomem prsu nebo ovária. Důraz je kladen na hledání markerů z řad kaspáz účastnících se regulace buněčné smrti a vybraných regulátorů cytokineze.

Autorka diskutuje potenciál vybraných markerů jako prognostických faktorů a diskutuje jejich terapeutické využití. V práci se též zabývá hledáním nových prediktivních markerů, které by mohly mít rutinní využití při volbě léčby pacientek s karcinomem prsu. Dále studiem genetické variability regulačních oblastí vybraných faktorů, jejím vlivem na expresi mRNA a alternativní sestřih, a dopadem této variability na vývoj nádorového onemocnění, případně odpovéd' na léčbu.

Téma dizertační práce bylo zvoleno vhodně, neboť řeší aktuální problematiku. Práce, i přesto, že nevedla k odhalení nových prediktivních či prognostických markerů pro klinickou praxi, přispívá k odhalení molekulárních mechanismů častého onkologického onemocnění a vytipovala několik potenciálních kandidátů pro další studie.

Formální členění a rozbor práce

Dizertační práce je prezentována ve formě komentovaného souhrnu celkem 4 prací v časopisech s IF, na kterých se autorka aktivně podílela. Autorka je prvoautorem tří uvedených prací. Přiloženy jsou všechny práce, včetně doplňkových souborů článků (Supplementary files), a nechybí komentovaný souhrn výsledků.

Úvod plní svou funkci, velice pečlivě popisuje současnou klasifikaci karcinomu prsu, možnosti terapie a přehledně představuje studované faktory. Autorka prokázala schopnost práce s literaturou a její správnou interpretaci. Úvod je doplněn názornými tabulkami a schématem. Původní zdroje jsou v textu řádně citovány.

Cíle práce jsou jasně stanovené, vyplývají z informací v úvodní části. Použité metody a navržené projekty odpovídá moderním trendům molekulární biologie u nás i ve světě.

Z metodického hlediska práce využila množství metod, jako jsou příprava nukleových kyselin a expresní studie pomocí metod založených qPCR, genotypizace za použití metod založených na PCR a přímém sekvenování, funkčních *in vitro* studií na buněčných liniích, včetně statistického zpracování dat a korelace s klinickopatologickými charakteristikami.

Výsledky dizertační práce Mgr. Veroniky Brynychové, dle mého názoru, plně odpovídají vytčeným cílům. Vzhledem k tomu, že všechny články představené autorkou prošly náročným recentním řízením v renomovaných časopisech, lze faktické stránce dizertační práce těžko něco vytknout. Výsledky práce autorky jsou vynikající. Dále nechybí odkazy na předchozí práce skupiny školitele, jež se problematikou nádorových onemocnění dlouhodobě zabývají.

Autoreferát je vypracován pečlivě a splňuje svou funkci.

Formální připomínky, které ovšem nikterak nesnižují vysokou úroveň předkládané práce:

- autorka by mohla uvést hodnotu IF dle roku, ve kterém byla práce publikována, tím by se hodnota IF u většiny uvedených prací, včetně dalších 3 publikací souvisejících s tématem, zvýšila.

Otázky oponenta, které mohou sloužit pro následnou diskusi:

1/ V práci č. 1 (Brynychova V, *Future Oncol.* 2013) uvádíte, že vzorky izolované celkové RNA nebyly ošetřeny DNasou. Přítomnost DNA jste pak ověřovali PCR amplifikací fragmentu s různou specifickou délkou pro cDNA a gDNA. Má tento postup nějaké výhody před klasickým použitím DNasy při přípravě celkové RNA? A jak si vysvětluje relativně nízká čísla integrity RNA (RIN 2,3-8,9, průměr 6.5) a vhodnost použití pro expresní studie?

2/ Prováděli jste imunohistochemické barvení jednotlivých faktorů, u kterých jste sledovali expresi na úrovni mRNA? Jak korelovala exprese mRNA s expresí proteinu?

3/ Sledování genetických změn např. kaspázy 2 a 9 bylo prováděno z nádorové tkáně a porovnávalo s DNA izolovanou z periferní krve. Prováděli jste i porovnání variant detekovaných v DNA z nádoru s DNA izolované z okolní nenádorové tkáně, která byla též k dispozici? Jsou v těchto genech popsány tkáňově specifické varianty?

Závěr

Autorka prokázala schopnost samostatné práce v laboratoři, kritického hodnocení výsledků a jejich sepsání. Dle mého názoru předkládaná doktorská práce rozhodně splňuje požadavky kladené na práce obdobného typu. Doporučuji proto, aby byl, na základě úspěšné obhajoby předložené práce, Mgr. Veronice Brynychové udělen titul "Ph.D." za jménem.

V Praze, 26. 9.2017

RNDr. Ivana Tichá, Ph.D.

Ústav patologie 1.LF UK a VFN
Studničkova 2
128 00 Praha 2

