

Oponentský posudek doktorské disertační práce

Autor: Mgr. Alena Kalfusová

Název: Komplexní molekulární diagnostika gastrointestinálních stromálních tumorů

Školitel: Prof. MUDr. Roman Kodet, CSc.

Oponentský posudek vypracoval: RNDr. Tomáš Vaněček, Ph.D., Bioptická laboratoř s.r.o. Plzeň

Hlavním tématem doktorské disertační práce Mgr. Aleny Kalfusové je molekulární analýza alterací gastrointestinálních stromálních tumorů (GIST).

Disertační práce má 211 stran a je klasicky členěna na úvod, cíle práce, materiál a metody, výsledky, diskuzi, závěr a několik seznamů včetně seznamu literatury, vše doplněné o kopie publikací. Mgr. Alena Kalfusová je u těchto publikací 5 x první autorkou, přičemž práce jsou publikovány ve dvou případech v časopisech s IF a ve třech případech v časopisech bez IF. Dále je zde seznam několika publikací, u kterých je Mgr. Alena Kalfusová spoluautorkou které však nesouvisí s disertační prací.

Rozsah a vzájemný poměr jednotlivých částí je přiměřený a odpovídající nárokům na doktorské disertační práce. Jazyková úroveň je dobrá. Místy sice, kupříkladu při překladech anglických termínů (a nejen tam), zařadil tiskařský šotek, nicméně míra chyb je relativně zanedbatelná.

V úvodu disertační práce autorka shrnuje aktuální poznatky týkající se výskytu, diagnostiky, molekulární genetiky a s tím související cílené léčby GIST. Text je dobře strukturovaný a čtivý, autorka prokázala schopnost zpracovat velké množství literárních zdrojů, včetně nejnovějších publikací týkajících se tématu.

Cíle práce stejně tak jako materiál i metodika jsou popsány stručně přitom však dostatečně jasně.

Přestože výsledky obsahují data sbíraná v poměrně dlouhém časovém období, v převážné většině neztratily nic na své aktuálnosti a mají přímý dopad na diagnózu, prognózu i léčbu GIST. Nacházíme zde výsledky mutační analýzy genů *KIT*, *PDGFRA*, *SDHx* a dalších alterací souvisejících se vznikem a progresí GIST. Dále pak výsledky detekce fúzních transkriptů a také z mého pohledu nejzajímavější a zřejmě vědecky nejhodnotnější část týkající se expresní analýzy markerů proliferace a senescence a jejich vztahu k biologickému chování GIST.

V diskuzi autorka poměrně vyčerpávajícím způsobem komentuje získané výsledky a dává je do vztahu s recentní literaturou, přičemž míra jejího záběru opět svědčí o detailním seznámení se s danou problematikou.

Závěr je pak opětovně sepsán dostatečně stručně s jasně vypíchnutými úspěchy předkládané disertační práce.

Otázky oponenta

1. V diskuzi se píše, že existuje souvislost mezi některými typy mutací a anatomickou lokalizací, která se dá údajně vysvětlit rozdílným původem ICC buněk. Pozorovali jste na Vašich datech z analýzy genů *KIT*/*PDGFRA* korelaci mezi typem mutace a anatomickou lokalizací? Jsou ICC podskupiny nějak definovány, např. morfologicky, imunohistochemicky?

2. Při NGS mutační analýze pacienta č. 7 byla potvrzena intranádorová heterogenita sekundárních mutací v kodónu 820 a 822 genu *KIT*. V jakém postavení se tyto mutace nacházely ve smyslu cis/trans?

Bioptická laboratoř s.r.o.

Mikulášské náměstí 4 | 326 00 Plzeň | IČ: 49197827 | DIČ: CZ49197827
tel.: 377 320 667, 603 83 53 53, 603 84 66 44 | fax: 377 440 539 | e-mail: biopticka@biopticka.cz

www.biopticka.cz

3. Mutační analýza genů *SDHx* pomocí NGS a MLPA přinesla zajímavé nicméně v porovnání s literaturou poněkud atypické výsledky, kdy byly nalezeny výhradně alterace typu CNV a navíc často ve vícero genech pro různé podjednotky SDH komplexu a jeho kofaktorů. Tento fakt ne zcela koreluje s představou mechanismu vzniku *SDHx* deficientních tumorů. Byla analyzována NGS data popř. byla ve vybraných případech prováděna FISH či obdobná analýza pro ověření přítomnosti delecí? Byla prováděna detailní re-analýza SNV? Dokážete vysvětlit absenci mutací typu SNV? Byla popř. bude prováděna analýza metylace promotoru genu *SDHC*?

4. Domníváte se, že by vedle dalších cílených léčiv bylo racionální použít k léčbě *SDHx* deficientních GIST inhibitory HIF jako např. Belzutifan a pokud ano, je Vám známa nějaká studie či „case report“?

5. Provádíte nebo se chystáte provádět na Vašem pracovišti „liquid biopsy“ u pacientů s GIST a jakou technologií?

I

Závěrečné hodnocení

Mgr. Alena Kalfusová předložila kvalitní disertační práci, která navazuje na recentní výzkum a přispívá k hlubšímu pochopení molekulárních mechanismů, které vedou ke vzniku a vývoji GIST a to včetně rozboru evoluce tumorů pod tlakem cílené léčby.

Stanovené cíle práce byly splněny, autorka prokázala teoretické i praktické znalosti problematiky a schopnost samostatné vědecké práce. Dosažené výsledky jsou dostatečně podpořené publikačními výstupy. Předložená práce splňuje všechny požadavky kladené na doktorskou disertační práci. Proto doporučuji, aby byl v případě úspěšné obhajoby Mgr. Aleně Kalfusové udělen akademický titul Ph.D., podle paragrafu 47 Zákona o vysokých školách č.111/98 Sb.

V Plzni 11.9.2023

Tomáš Vaněček
Bioptická laboratoř s.r.o
Plzeň