



Lékařská fakulta
Univerzity Palackého
v Olomouci



FAKULTNÍ NEMOCNICE®
OLOMOUC

Oponentský posudek Ph.D. dizertační práce MUDr. Petra Huška

Název práce: **Změny v metylaci DNA jako potenciální biomarkery v léčbě karcinomu močového měchýře**

Autor dizertace: **MUDr. Petr Hušek**

Oponent: **prof. MUDr. Vladimír Študent, Ph.D., Urologická klinika FN a LF UP Olomouc**

Dizertační práce je zpracovaná na vysoce aktuální téma karcinomu močového měchýře, který je sedmou nejčastěji diagnostikovanou malignitou mužů na světě a jedenáctou u obou pohlaví dohromady.

Dizertační práce je v rozsahu 73 stran, velmi pěkný a precizně zpracovaný teoretický úvod, obohacený pěknými fotografiemi je na 49 stranách. Výzkumná část je od str. 50 – 68.

Pro výzkumnou část práce si autor stanovil tři základní cíle:

1. Retrospektivní zhodnocení výsledků léčby u pacientů s *high grade* NMIBC a CIS močového měchýře, kteří absolvovali BCG instalační terapii.
2. Studium epigenetických změn ve tkáni *high grade* NMIBC a CIS.
3. Hledání epigenetického markeru predikujícího léčebnou odpověď BCG vakcíny v léčbě *high grade* NMIBC a CIS.



Univerzita Karlova	16891
Přijato: 31.08.2020 v 06:56:53	Odbor:
Č.j.: UKLFHK/347210/2020	Zprac:
Č.dop.:	
Listů: 2 Příloh: 3	
Druh: písemné	



Dané cíle byly splněny :

1. V souboru pacientů byl potvrzen dobrý klinický efekt BCG instilační terapie u pacientů *high grade* NMIBC a CIS močového měchýře. U pacientů nebyla spojena přítomnost CIS ani vyšší skóre progresu s vyšším rizikem selhání léčby, což neodpovídá očekávaným předpokladům. Autoři vysvětlují nedostatečnou velikostí souboru.
2. Kompletní nebo částečná metylační analýza byla provedena u 57 pacientů s tumorem měchýře a 13 kontrolních pacientů. Izolace DNA byla neúspěšná u 9 pacientů, kde tedy metylační analýzu nebylo možno provést.
U povrchového *high grade* karcinomu močového měchýře byly zjištěny změny metylací v porovnání s kontrolní tkání u těchto genů: WIF1, GATA4, TERT, BLC2, CDH13, RASSF1a, RASSF1b, TP73, CDKN2B, APC, TWIST1, PTEN, SFRP1b. Zcela nově byly námi identifikovány změny metylací genů MUS81a, NTRK1 a PCCA.
3. Ze všech 56 analyzovaných genů byly odhaleny signifikantní změny metylací u dvou genů. Nepřítomnost metylací genů CDKN2B ($p=0,00312^{**}$) a MUS81a ($p=0,0191^{*}$) byla spojena se selháním BCG léčby.

Na základě výstupu práce a dosud publikovaných dat, mají změny metylací vybraných tumor supresorových genů potenciál v předpovědi léčebné odpovědi BCG instilační terapie, u pacientů s povrchovým *high grade* karcinomem močového měchýře. Nicméně zatím je stále málo dat pro bezpečné využití v běžné klinické praxi. Metylace tumor supresorových genů jako PMF-1, MSH6, THBS1, CDKN2B a MUS81 jsou velmi nadějně pro další výzkum.



Autor práce uvádí 112 citací včetně české literatury.

Závěr :

Téma dizertační práce, je to dobré zvolené, zajímavé téma, dobře postavené tři hypotézy a cíle. Podle seznamu literatury je výzkum hypermetylace tumor-supresorových genů (TSG) u nádorů měchýře publikován cca 20 let. Podobná práce jako je tahle je např z roku 2011 (zkoumající závislost odpovědi na BCG podle stupně metylace některých genů) – v dizertaci citace č.106. Metodika Dr Huška odpovídá zhruba této práci, ve výsledcích přináší jeho práce nové poznatky o metylaci TSG.

Z výše uvedených důvodů doporučuji práci k obhajobě. Po jejím obhájení doporučuji MUDr. Petru Huškovi udělení akademického titulu doktor (Ph.D.) podle § 47 Zákona o vysokých školách č. 111/98 Sb.

Otázky k rozpravě:

1. Zda geny, které byly signifikantně odlišně metylované v nádorové a nenádorové tkáni, bylo možno použít jako biomarker odpovědi na BCG léčbu – statisticky vyjádřit pro jeden gen nebo kombinaci genů jaká je prediktivní hodnota , že BCG bude úspěšná nebo selže – pokud je výsledek analýzy hypermetylace pozitivní / negativní?
2. Zda u 32% pacientů u kterých došlo k rekurenci nebo progresi po BCG – podobně jako v předchozím bodě by šlo zhodnotit přínos některého z genů jako biomarkeru rekurence nebo progresi?
3. Zda lze korelovat hypermetylaci TSG s klinickými a histopatologickými faktory – vztah ke kouření, pohlaví, CIS...?

V Olomouci dne 15.5.2020

prof. MUDr. Vladimír Študent, Ph.D.
přednosta Urologické kliniky