



UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE  
LÉKAŘSKÁ FAKULTA V PLZNI  
HUSOVA 3  
306 05 PLZEŇ

## OPONENTSKÝ POSUDEK DISERTAČNÍ PRÁCE

**Název práce:** „Změny v metylaci DNA u pacientek s ovariálním karcinomem“.

**Studijní obor:** Klinická biochemie

**Autor:** Mgr. Marcela Chmelařová

**Pracoviště:** Ústav klinické biochemie a diagnostiky LF UK a FN v Hradci Králové

### Úvod, formální stránka práce

Předložená disertační práce má 70 stran vlastního textu, pět příloh (vlastní práce uchazečky) a seznam literatury, čítající 109 citací domácí a zahraniční literatury. Schéma práce odpovídá předepsanému členění dizertační práce, struktura práce je logická, směřující od shrnutí poznatků o problematice přes jasně vytýčené cíle práce, stanovení metodiky, prezentaci výsledků, diskusi a odpovídající závěry práce.

Souhrn prací autorky přiložený v autoreferátu k dizertační práci dokladuje publikační činnost MUDr. Chmelařové k danému tématu. Mgr. Chmelařová je autorkou či spoluautorkou osmi prací publikovaných či přijatých k publikaci k danému tématu, z toho je pět prací v časopisech s impakt faktorem.

Práce je až na ojedinělé překlady gramaticky i stylisticky na odpovídající úrovni. Tabulky, grafy a schémata jsou rovněž zpracovány adekvátně. Poslední práce v rámci příloh je vsazena hlavou dolů (nevím, zda to není pouze vada mě zasláného výtisku). V literatuře mi chybí číslování citací.

### 1/ Zvolené téma

Zhoubné nádory vaječníků jsou pro svou vysokou mortalitu danou absencí časných příznaků a agresivním průběhem nejzávažnějším problémem onkogynekologie. Snahy o zlepšení stávající situace jsou zaměřeny jak na časný záchyt onemocnění, tak na rozvoj nových léčebných metod odvozených mimo jiné i od znalosti genetických a epigenetických charakteristik těchto tumorů. K těmto snahám přispívá i práce autorky, zvolené téma proto považuji za vysoce aktuální.

Autorka se vytkla celkem čtyři cíle:

- 1/ Zavést a zoptimalizovat vybrané metodiky sledující změny v metylaci DNA.
- 2/ Zjistit, které metody jsou vhodné pro analýzu metylace málo kvalitní DNA izolované z parafinových bločků.
- 3/ Zjistit, zda je metylace promotorových oblastí vybraných genů ve tkáních spojena s ovariálním karcinomem.
- 4/ Zjistit, jakým způsobem metylace vybraných genů koreluje s klinicko-patologickými charakteristikami ovariálního karcinomu.

### 2/ Zvolené metody zpracování

Ke splnění výše uvedených cílů analyzovala autorka tkáňové vzorky celkem 109 pacientek (69 s diagnózou ovariálního karcinomu a 40 vzorků ovariální tkáně u pacientek operovaných pro benigní diagnózu) léčených na Porodnicko-gynekologické klinice LF UK a FN v Hradci Králové. Vlastní experimentální práce byla zaměřena především na analýzu změn v metylaci promotorové oblasti TP53 (což u



## UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE – LÉKAŘSKÁ FAKULTA V PLZNI

ovariálního karcinomu dosud publikováno nebylo), dále na analýzu metylace transkripčního faktoru GATA4 novým setem primerů a testování dvou komerčním kitů, které mohou analyzovat atypickou metylaci u 47 tumor supresorových genů. Autorka dále provedla korelaci výsledků s klinicko-patologickými charakteristikami, jako jsou věk, histologický typ nádoru, jeho grade a stádium onemocnění. Rozdíly mezi skupinami byly statisticky hodnoceny Fischerovým přesným testem. Zvolenou metodiku včetně velikosti souboru a statistických metod považuji za adekvátním vzhledem k vytýčeným cílům práce.

### 3/ Výsledky disertační práce

Mgr. Chmelařová dokladuje statisticky významně vyšší přítomnost metylace sledované CpG oblasti TP53 u vzorků ovariálního karcinomu v porovnání s nenádorovou tkání, obdobné výsledky prokazuje i u metylace GATA4 genu. U GATA4 genu byla statisticky významně vyšší přítomnost metylace u endometroidního typu karcinomu. Pomocí komerčních multiplexových kitů byla zjištěna celá řada dalších statisticky významných změn v metylaci detekovaných CpG míst u ovariálního karcinomu.

Na výsledkovou část navazuje obsáhlá diskuze, kde autorka zdařile zasazuje vlastní zjištěná data do kontextu publikovaných poznatků a zamýšlí se nad dalšími směry výzkumu v dané oblasti i možnostmi aplikace získaných poznatků v klinické praxi.

### 4/ Splnění stanoveného cíle práce

Cíle stanovené autorkou v úvodu práce byly splněny, a to jak cíle technicko-organizační (zavedení a zdokonalení nových metod), tak cíle vědecké (analýza metylace některých genů u pacientek s ovariálním karcinomem). Po formální stránce bych nedoporučoval uvádět v práci odkaz na přílohy (tedy publikované práce), ale přímo komentování dosažení vytýčených cílů v textu disertační práce.

#### *Otázky pro uchazečku:*

1/ V jakém stádiu jsou poznatky o detekci volné nádorové DNA v plazmě a jak konkrétně by mohla tato analýza ovlivnit naše dosud neúspěšné snahy o časnou detekci karcinomu ovaria?

2/ Jaké má autorka vysvětlení pro statisticky významně vyšší výskyt metylace CpG míst u celé řady genů u endometroidního typu ovariálního karcinomu ve srovnání s jinými typy?

**Závěr: Předložená práce Mgr. Marcely Chmelařové splňuje požadavky kladené na disertační práci v oboru Klinická biochemie. Na základě výše uvedeného ji doporučuji k obhajobě a v případě úspěšného obhájení k udělení titulu Ph.D.**

V Plzni dne 25.6.2013

Doc. MUDr. Jiří Bouda, Ph.D.