

## POSUDEK OPONENTA DISERTAČNÍ PRÁCE

<b>Univerzita</b>	Univerzita Karlova v Praze
<b>Fakulta</b>	Lékařská fakulta v Hradci Králové
<b>Doktorský studijní program</b>	Gynekologie a porodnictví
<b>Uchazeč</b>	MUDr. Eva Dvořáková
<b>Pracoviště</b>	Porodnická a gynekologická klinika FN a LF UK v Hradci Králové
<b>Disertační práce</b>	Molekulárně biologické změny u karcinomu endometria
<b>Oponent</b>	prof. MUDr. Karel Odrážka, Ph.D.
<b>Pracoviště</b>	Oddělení klinické a radiační onkologie, Multiscan s.r.o., Pardubická krajská nemocnice, a.s. 1. a 3. LF UK v Praze

### Téma

Tématem disertační práce je zkoumání vybraných molekulárně biologických parametrů u pacientek s karcinomu endometria. Hypotéza je taková, že u karcinomu endometria dochází k mutaci genu K-ras a metylaci promotoru různých nádorových supresorových genů, což může mít vztah k histopatologickým a klinickým charakteristikám nádoru.

Cílem práce je stanovit přítomnost mutace K-ras, respektive metylace promotoru vybraných nádorových supresorových genů, u karcinomu endometria a vyhodnotit vztah těchto molekulárně biologických změn ke klinicko-patologickým parametrům.

Téma práce je originální, pokud jde o zvolené spektrum nádorových supresorových genů u karcinomu endometria. Methylace promotoru TP53 a GATA5 doposud nebyla u tohoto nádoru zkoumána.

### Struktura

Disertační práce má celkem 84 stran a obsahuje 23 ilustrací (tabulky, grafy, obrázky). Seznam použité literatury zahrnuje 139 citací. Text je srozumitelný, grafické vyjádření výsledků je vhodné, volba literatury odpovídá tématu a její šíře je dostatečná.

### Metodika

Retrospektivně byly vyhodnoceny bioptické vzorky endometria u 79 pacientek - 59 žen s karcinomem endometria a 20 žen s normálním endometriem. Mutace K-ras byla detekována metodou PCR. Pro hodnocení metylace oblasti promotoru vybraných nádorových supresorových genů byly využity metody metylačně specifické MLPA, respektive metylačně-specifické PCR. Pro zkoumání vztahu molekulárně biologických změn a histopatologických a klinických parametrů byly zvoleny následující ukazatele - stádium (IA, IB) a grading (1, 2, 3). Statistické vyhodnocení bylo provedeno standardními metodami (t-test, Fisherův test, chí-kvadrát test).

Molekulárně biologické parametry jsou vhodně zvoleny, stejně jako parametry histopatologické a klinické. Použitá metodika srovnání experimentální a kontrolní skupiny pacientek je standardní. Pozitivní je skutečnost, že počet pacientek ve skupině s karcinomem endometria (n = 59) je relativně vysoký.

### Výsledky

Výskyt mutace K-ras se ve skupině experimentální a kontrolní neliší. Významný vztah mezi přítomností mutace K-ras a klinicko-patologickými parametry nebyl prokázán. U karcinomu endometria byla v porovnání s normálním endometriem zjištěna hypermetylace ( $\geq 15$  % metylované DNA) genu CDH13; statisticky hraniční výsledek byl u genu WT1. Zvýšená metylace promotoru byla u karcinomu endometria detekována u genu GATA4 (82 % pacientek s karcinomem endometria versus 0 % ve skupině kontrolní). Absence metylace promotoru byla zaznamenána u genu TP53. Významný vztah mezi stupněm metylace genů a klinicko-patologickými parametry byl prokázán v případě WT1 (vyšší metylace u stádia IB v porovnání s IA), GATA5 (vyšší metylace u stádia IB v porovnání s IA, vyšší metylace u gradingu 3 v porovnání s gradingem 1 a 2).

Analýza vybraných molekulárně biologických parametrů – mutace K-ras a hypermetylace promotoru nádorových supresorových genů – u pacientek s karcinomem endometria přinesla nové vědecké poznatky. Methylace promotoru TP53 pravděpodobně nehraje roli v rozvoji karcinomu endometria. Hypermetylace promotoru genů WT1 a GATA5 může být spojena s agresivnějším fenotypem nádoru – vyšší stupeň invaze do myometria a nižší stupeň diferenciací nádorových buněk.

Disertační práce splnila sledovaný cíl a prokázala předpoklady autora k samostatné vědecké práci.

#### **Dotazy oponenta k obhajobě disertační práce**

Čím si vysvětlujete absenci vztahu mezi hypermetylací promotoru GATA4 a histopatologickými a klinickými parametry?

Může mít stanovení metylace promotoru WT1 a GATA5 význam pro běžnou klinickou praxi?

#### **Závěr**

Disertační práci doporučuji k obhajobě.

V Pardubicích dne 21. května 2014

prof. MUDr. Karel Odrážka, Ph.D.