

OPONENTSKÝ POSUDEK DISERTAČNÍ PRÁCE

Autor práce: Ivana Baranová, M.Sc.

Školící pracoviště: **Ústav klinické biochemie a diagnostiky, Univerzita Karlova,
Lékařská fakulta v Hradci Králové**

Název práce: **Epigenetic Regulation of Adhesive Molecules in High Grade Serous Ovarian Carcinoma**

Předložená disertační práce byla vypracována pod vedením školitele prof. Vladimíra Paličky, M.D., Ph.D. a školitele-konzultanta Marcely Chmelařové, M.Sc., Ph.D.

Autorka zvolila ve své disertační práci aktuální onkologickou problematiku. Zaměřuje se na ovariální karcinom a možnosti využití analýzy stupně DNA metylace v CpG oblastech vybraných adhezivních molekul v časně detekci tohoto typu karcinomu a jejího prediktivního potenciálu. Věnuje se optimalizaci několika nových a náročných metodik, především NGS sekvenování a validačních metod užívaných pro detekci DNA metylací v reálném čase. Další část studie porovnává dosažené výsledky s dostupnými daty s TCGA databáze věnující se této problematice u většího množství genů. V poslední části autorka shrnuje možnosti použití vybraných genů pro diagnostický panel DNA metylací u ovariálního karcinomu.

Předložená disertační práce má celkem 89 stran, z toho 10 stran je výčet použité literatury (čítající celkem 160 odkazů) a 9 stran obsahuje dodatky, které vhodně ilustrují další použitá data získaná mimo popisovanou studii. Součástí práce je 11 přehledných tabulek a 15 instruktivních obrázků zařazených přímo do příslušného textu.

Disertační práce je napsána velmi kvalitní angličtinou a grafické uspořádání práce je zdařilé. Práce je rozčleněna do 6 klasických a logicky navazujících kapitol, vhodné délky i obsahu.

Textová část práce je vyváženě rozdělena na teoretický úvod a vlastní studii. Teoretický úvod výstižně pojednává o ovariálním karcinomu, od epidemiologie přes etiopatogenezi, po diagnostiku a léčbu. Další část se věnuje epigenetice, popisuje epigenetické mechanismy včetně výpisu jejich možného stanovení (u DNA metylací) a přehledně shrnuje dostupné studie týkající se tohoto typu nádoru. Teoretický přehled svědčí o dobré orientaci a zájmu autorky o danou problematiku.

Cíle práce jsou formulované v pěti bodech. Kromě optimalizace metodik (1. a 2. bod) porovnání dat získaných z nádorů a kontrolních vzorků (3.) a zhodnocení jejich korelace s klinicko-patologickými daty pacientek (4.), se věnuje návrhu potenciálního panelu biomarkerů založeného na stanovení DNA metylací pro screening ovariálního karcinomu (5.).

Velmi se mi líbila kapitola metodická (Materials and Methods), kde je hned v úvodu přehledně shrnuta skupina použitých vzorků a detailně jsou popsány metody stanovení, včetně názorných obrázků pro ilustraci metodik (např. Obr.7, 8, 9). Výsledky stručně a velice ilustrativně ukazují příklady vyhodnocení získaných dat, jejichž vyhodnocování, (především NGS sekvenování), by nepochybně vydalo na celou další práci. Diskuze následně přehledně shrnuje, které geny by bylo vhodné do navrhovaného diagnostického panelu zařadit a které nikoliv. Podrobně také analyzuje dosažené výsledky v souvislosti, s již publikovanými daty jiných autorů a jejich dostupností v TCGA databázi. Dosažené výsledky jsou zajímavé, přínosné a o jejich kvalitě svědčí i jejich publikování v impaktovaných časopisech. Zde bych ocenila konkrétní zmínku v kterých publikacích, z celého výčtu publikací autorky, byly výsledky této práce zahrnuty.

Připomínky a dotazy

K obsahové ani formální stránce disertační práce nemám zásadní připomínky či výhrady. Pouze u odkazu na datový portál nebo na databázi bych vložila přímo do textu odkaz pro snazší nalezení příslušných internetových stránek. Zcela ojedinělé překlepy, odkaz na jinou tabulku, či zmíněné jiné číslo v textu a v tabulce, nijak nesnižují vědecký přínos předložené disertační práce.

Autorce bych ráda položila následující dotazy:

1. V teoretické části u stanovení DNA metylací zmiňujete možnost využití tzv. „padlock“ prób v BSPP metodě (s.23), o kterých jsem nikdy neslyšela, můžete tuto metodu trochu přiblížit?
2. Na několika místech zmiňujete důležitost kvalitní (nefragmentované) DNA pro NGS stanovení. V metodice postrádám zmínku o jejím testování. Testovali jste nějakým způsobem integritu izolované DNA, především z FFPE vzorků?
3. V diskuzi uvádíte několik FDA schválených panelů pro detekci DNA metylací u různých typů nádorů. Je nějaký z těchto panelů dostupný i v České Republice? Jestli ano, kolik takové stanovení přibližně stojí?
4. Jaký je váš názor (s ohledem na vámi provedené experimenty a jejich náročnost) na reálnou možnost použití takového stanovení pro diagnostiku ovariálního karcinomu v budoucnosti?

Závěr

Ivana Baranová, M.Sc., předložila kvalitní disertační práci, autorkou vytyčené cíle byly beze zbytku splněny. Dosažené výsledky významně rozšiřují spektrum poznatků týkajících se DNA metylace vybraných genů kódujících adhezivních molekuly u pacientek s ovariálním karcinomem.

Z přiloženého přehledu publikací je patrné, že autorka předkládané disertační práce prokázala své schopnosti samostatně tvořivě vědecky pracovat a prezentovat výsledky formou přednášek i publikací.

Ivana Baranová, M.Sc. splnila všechny požadavky kladené na doktorskou disertační práci stanovené podle §47 Zákona o vysokých školách č. 111/1998 Sb. Doporučuji, aby ji byl po úspěšné obhajobě disertační práce udělen titul doktor - „Ph.D.“ za jménem.

doc. Ing. Petra Matoušková, Ph.D.

Katedra biochemických věd
Farmaceutická Fakulta
Univerzita Karlova
Akademika Heyrovského 1203/8
Hradec Králové
e-mail: matousp7@faf.cuni.cz

V Hradci Králové 15. srpna 2019.