

# Posudek oponenta disertační práce

Název disertační práce: EPIGENETICKÉ ALTERACE U DLAŽDICOBUNĚČNÝCH NÁDORŮ  
HLAVY A KRKU: POTENCIÁLNÍ BIOMARKERY

Student: Mgr. Helena Kovaříková

Oponent: doc. RNDr. Martin Pešta, Ph.D.

Pracoviště oponenta: Univerzita Karlova, Lékařská fakulta v Plzni, Ústav biologie

Disertační práce Mgr. Heleny Kovaříkové se zabývá epigenetickými změnami, konkrétně změnami exprese molekul mikroRNA a metylačního profilu vybraných genů u dlaždicobuněčných nádorů hlavy a krku s cílem identifikovat diagnostické a prognostické biomarkery. Dlaždicobuněčné nádory hlavy a krku jsou onemocnění s komplikovanou diagnostikou a léčbou, proto toto téma jistě může přinést poznatky, které mohou napomoci diagnostice a léčbě tohoto onemocnění.

Cíle disertační práce jsou jasně formulovány: 1. Pomocí high-throughput metod a následným ověřením výsledků pomocí RT real-time PCR stanovit expresi mikroRNA u sinonazálních a orofaryngeálních karcinomů. 2. Zjistit, zda se na regulaci studovaných mikroRNA podílí methylace DNA. 3. Pomocí statistické analýzy nalézt vztah mezi hladinami miRNA a klinikopatologickými údaji pacientů. A za 4. Navrhnout miRNA potenciálně využitelné jako biomarkery u těchto nádorů.

Předkládaná dizertační práce má 109 stran textu a 14 stran příloh. Práce má klasickou formu výkladu aktuálního pohledu na problematiku dlaždicobuněčných nádorů hlavy a krku, biogeneze molekul miRNA a změn methylace sekvencí DNA. Následují části cíle disertační práce, část metodická, část výsledková atd.

Mgr. Kovaříková publikovala 2 prvoautorové články v časopisech s impakt faktorem a je spoluautorkou 7 článků v časopisech s IF. Pět publikací se týká bezprostředně tématu disertační práce a jejich výsledky jsou její součástí. Své výsledky Mgr. Kovaříková prezentovala rovněž formou přednášek.

Za nejprínosnější výsledky autorky považuji, že identifikovala miR-9 jako potenciální biomarkere pro sinonazální spinocelulární karcinom. Zjistila, že jak miR-9-5p, tak mir-9-3p jsou intenzivně exprimovány v nádorové tkáni, exprese miR-9 je ve vztahu k přežití pacientů a korelovala s některými klinicko-patologickými parametry. Dále identifikovala miR-150-5p jako potenciální biomarker pro orofaryngeální spinocelulární karcinom. miR-150-5p byla významně snížena ve vzorcích nádorů i metastáz a nízká exprese byla ve vztahu s nepříznivým vývojem onemocnění.

## Připomínky

Po formální stránce je práce pečlivě napsána. Obsahově mám k předložené práci dvě připomínky. „Teoretický úvod“ by mohl být o něco delší, konkrétně mi chyběla kapitola o molekulární patogenezi sinonazálních karcinomů, totéž se týká orofaryngeálních karcinomů. Uvedené je myslím důležité v kontextu role

zkoumaných RNA. Také by mělo být důslednější uvádění výrobce a země původu u použitých chemikálií (např. str. 39).

Z mého pohledu je určitou limitací práce nízký počet vzorků. 46 vzorků nádorové tkáně (sinonazálních karcinomů a orofaryngeálních karcinomů) a 8+9 kontrolních vzorků, přičemž se nejedná o párové kontrolní vzorky (nádor + kontrolní tkáň). To do určité míry limituje výpovědní hodnotu získaných výsledků.

### **Dotazy**

Testovala jste možnost získat kontrolní tkáň z FFPE vzorků mimo oblast nádorové tkáně makrodisekcí?

Jaká je Vaše zkušenost s metodou TaqMan Advanced miRNA Assays (myšleno v porovnání s TaqMan miRNA Assays)?

U kterých miRNA jste v nádorové tkáni zjistila rozdíly v expresi mezi HPV pozitivními a HPV negativními pacienty?

### **Závěr**

Mgr. Helena Kovaříková úspěšně zvládla u dlaždicobuněčných nádorů hlavy a krku aplikaci high-throughput metod Agilent miRNA microarray a small RNA NGS a validaci získaných výsledků pomocí RT real-time PCR s cílem identifikovat diagnostické a prognostické biomarkery. Výsledky úspěšně vyhodnotila, interpretovala, publikovala a prokázala schopnost samostatné tvůrčí vědecké práce.

Předkládaná práce vytváří homogenní celek a je přehledně členěná. Cíle práce jsou konkrétně uvedeny, zvolené metody umožňují jejich dosažení a výsledky a diskuse obsahují odpovědi na definované cíle. Práce přináší relevantní vědomosti k medicínsky důležité oblasti. Práce splnila požadavky kladené na disertační práci a doporučuji ji tedy k obhajobě k získání akademického titulu Ph.D. dle §47 Zákona o vysokých školách č. 111/98 Sb.

Datum 13.8.2019

.....  
Podpis