

## OPONENTSKÝ POSUDEK DIPLOMOVÉ PRÁCE

Název práce: **Sledování změn metylace DNA jako prognostických biomarkerů u karcinomu děložního čípku**

Autor/ka: **Bc. Kristýna Růžičková**

Studijní program: N0512A130006 Analýza biologických materiálů,  
Fakulta chemicko-technologická, Univerzita Pardubice

Rok: **2022**

Předložená diplomová práce (DP) Bc. Kristýny Růžičkové se zabývá studiem změn methylyace DNA u karcinomu děložního čípku, konkrétněji analýzou methylačního stavu dvou zájmových genů, zvolených na základě literární rešerše a ověření kandidátních genů v databázi TCGA (The Cancer Genome Atlas) a korelací zjištěných změn s klinicko-patologickými parametry.

Předkládaná práce má rozsah přibližně 55 stran, následuje seznam 113 citovaných zdrojů. Teoretická část obsahuje pasáže o epidemiologii a patofyziologii cervikálního karcinomu, úvod do epigenetiky včetně popisu vybraných analytických metod. Vlastním molekulárním markerům u cervikálního karcinomu se autorka věnuje v posledních přibližně třech stranách teoretické části, přičemž jedna je zaměřena přímo na metylaci DNA u karcinomu děložního čípku, tedy hlavní téma práce. Autorka zde bohužel vychází z jediné přehledové práce z r. 2018, přičemž poznatky shrnuje do dvou tabulek bez komentáře k jednotlivým markerům. Z mého pohledu je tak těžiště rešerše výrazně posunuto k učebnicovým informacím a současná úroveň poznatků není dostatečně zpracovaná. Text publikace je přehledně členěn a zpracován, obsahuje doprovodný grafický materiál a cituje velké množství prací. Určitým problémem je nepřesnost mnohých použitých frází, je patrné, že je pro diplomantku daný obor novým, každopádně právě za výběr velmi složitěho oboru a tématu diplomové práce náleží studentce body navíc. Textu by každopádně prospěla korektura, škoda je gramatických a stylistických chyb, vypadlých slov, zpřeházených písmen ve zkratkách apod.

Experimentální část práce se odráží od blíže nespecifikované analýzy genomických dat z databáze TCGA, kdy autorka zvolila pro vlastní analýzu z devíti kandidátů dva geny, ASCL1 a SLIT2. V úvodu je prezentována pěkně zpracovaná tabulka klinických charakteristik a diplomantka pokračuje k vlastním molekulárně biologickým stanovením. Detailně jsou uvedeny pracovní návody, jimž je věnován poněkud naddimenzovaný prostor. Součástí experimentální části bylo zavedení a optimalizace metody, která v případě genu SLIT2 nebyla úspěšná a tento gen byl ze studie vyřazen. Pro gen ASCL1 byly zjištěny jednak rozdíly v methylaci u nádorových vzorků proti nenádorovým, jednak korelace s klinickými parametry charakterizujícími zvýšenou invazivitu jednotlivých nádorů, což jsou jistě zajímavá a přínosná zjištění.

Prezentovaná práce obsahuje krátkou diskuzi v rámci sekce výsledkové, autorka zde shrnuje postup studie, uvádí charakteristiku kandidátních genů SLIT2 a ASCL1, výsledky korelace methylačního stavu ASCL1 a klinických charakteristik, které navíc byly v souladu s výstupy analýzy dat z TCGA databáze.

Mým závěrem jsou následující body:

- Experimentální práce ve velmi náročném oboru a na složitěm tématu
- Poměrně velký soubor zpracovaných vzorků, pokročilé metody molekulární biologie
- Nové, zajímavé výsledky v atraktivní oblasti

***V souhrnu tedy práci doporučuji k obhajobě, v porovnání náročnosti a kvality provedení navrhuji známku chvalitebnou.***

Dotazy k obhajobě:

1. Prezentujte, prosím, design studie, např. v podobě grafického abstraktu; objasněte při tom kolik, jakých vzorků bylo získáno, zpracováno, vyhodnoceno.
2. Vysvětlete princip/ obsah schémat na obrázcích 10 a 11.
3. Vysvětlete, prosím, tabulky 18 a 19.
4. Jakým způsobem jste stanovovala specifitu a senzitivitu zavedeného testu a jaký je jeho účel; doporučila byste jej jako diagnostický test pro klinické testování/využití? Bude možné jej provádět neinvazivně, z jakého materiálu?
5. Na str. 60 uvádíte u obou ampliconů ASCL1 signifikanci  $p=0,000$ . Jak jste došla k daným hodnotám?

V Opatovicích nad Labem dne 3. června 2022

RNDr. Jana Nekvindová, Ph.D.

Ústav klinické biochemie a diagnostiky

Fakultní nemocnice Hradec Králové