

Oponentský posudek doktorské disertační práce

Univerzita Karlova
Farmaceutická fakulta v Hradci Králové
Katedra biochemických věd

Název disertační práce: Úloha mikroRNA ve fyziologii a patologii

Kandidát: Mgr. Barbora Hanousková

Školitel: doc. Ing. Petra Matoušková, Ph.D.

Oponent: Ing. Michaela Dostálová Merkerová, Ph.D.

Posudek byl zpracován na základě předložené disertační práce, která byla sepsána formou komentovaného souboru 5 publikací. Práce se zabývá se studiem miRNA ve fyziologii a patologii, konkrétně při adipogenezi (1. – 3. publikace) a dále kardiotoxicitě léčiv (imatinib, doxorubicin) (4. – 5. publikace). Každé z témat je uvedeno jedním souhrnným článkem (1. a 4. publikace) a dále je experimentálně rozpracováno v několika kvalitních původních pracích (2., 3., a 5. publikace). Všechny práce byly publikovány v mezinárodních recenzovaných časopisech s vysokým impact factorem (vždy vyšším než 4,0). Podíl autorky na jednotlivých publikacích je zásadní, je první autorkou všech tří původních prací a druhou autorkou obou review.

Disertační práce je napsaná anglickým jazykem (na 61 stranách), velice čtivým stylem s minimem překlepů a chyb. Autorka se v dané problematice velmi dobře orientuje a jasně prokázala své znalosti zpracovávaného tématu. Samotná práce je rozdělena do 10 kapitol. Literární rešerše je postavena na 108 citacích. Obrazovou dokumentaci vlastní práce tvoří 8 obrázků, a součástí tištěné formy disertační práce je rozsáhlý přílohový materiál všech 5 komentovaných publikací.

V teoretickém úvodu práce studentka shrnuje současné znalosti o epigenetice s detailnějším zaměřením na miRNA. Přestože je rešerše zpracována velmi kvalitně a srozumitelně, uvítala bych její užší tematické zaměření. Od rešerše disertační práce očekávám, že pojme konkrétní zkoumaný problém detailně a často i z nového úhlu pohledu a na základě této analýzy pak vystane hypotéza, kterou student experimentálně analyzuje. Široké téma rešerše působí svou hloubkou spíše jako úvodní učebnice do epigenetiky a nedovoluje autorce jít příliš do detailů. Práce tak bohužel čtenáři nepředkládá plné pochopení souvislostí navazující na experimentální část (adipogeneze, kardiotoxicita). Že je autorka schopná se do obou tématik ponořit hlouběji, je zjevné z obou review, ta ale nejsou součástí elektronické verze práce. Myslím tedy, že bylo by vhodné čtenáři obě témata alespoň v krátkých kapitolách představit i v rámci literární rešerše. Dále bych uvítala bohatší doplňující materiál, zejména postrádám souhrnné tabulky např. u druhů histonových modifikací, modifikací DNA či nekódujících RNA, které by kromě názornosti mohly pomoci ušetřit prostor pro detailnější informace k vlastnímu tématu práce.

Ke konci disertační práce následují krátké komentáře zvlášť k jednotlivým publikacím autorky a úplně nakonec je vložen velmi stručný závěr ve formě zopakování hlavních výstupů jednotlivých prací. Postrádám však závěrečnou souhrnnou diskuzi, která by propojila výsledky práce mezi sebou a ukázala, jak se navzájem doplňují či vylučují, nebo naznačila další možné směry pro budoucí výzkum. Myslím, že i ve formě „komentovaného souboru publikací“ by bylo vhodné hlavní závěry práce uvést alespoň krátce do kontextu souvislostí se současnými znalostmi, ukázat kam výsledky práce naše znalosti posunuly a prokázat tím kvalitu celé práce.

Souhrnně k celé práci: V rámci disertace studentka jasně ukázala, že je schopna kvalitní vědecké práce, bioinformatické analýzy dat i odborného publikování. Velmi oceňuji odlišný charakter jednotlivých publikací, který prezentuje, že autorka umí sepsat kvalitní review, realizovat studii deskriptivního charakteru, pracovat s myšlemi modely, ale také provést funkční analýzy vybraných genů v *in vitro* systému.

Vzhledem k tomu, že práce s úspěchem prošly odborným peer-review procesem, mi rozhodně nepřísluší jejich kritika, mám spíše několik doplňujících dotazů:

1. Termín „epigenetika“ popisuje dědičné změny, které nejsou způsobeny změnou sekvence DNA. Nekódující RNA, včetně miRNA, jsou ale přímo kódovány v DNA. Jsou to produkty transkripce DNA, které jen nejsou dále přepisovány do proteinů. Z tohoto úhlu pohledu by tedy neměly být do epigenetiky vůbec řazeny. Co si o tomto rozporu myslí autorka?

2. V 1. publikaci autorka provádí rešerši miRNA ovlivňujících expresi 8 glutathion peroxidáz. Proč si k detailním analýzám v 2. publikaci vybrala zrovna GPx7?

3. Hledání markeru kardiotoxicity v myším modelu (5. publikace): V takto nastaveném experimentu (porovnání hladin miRNA u myší, kterým byl podáván imatinib, případně doxorubicin, s jejich hladinami u kontrolních myší) bych přímo neočekávala, že budou hodnoty vytipovaných miRNA korelovat s hladinou troponinu, markeru kardiotoxicity. Deregulace miRNA v takto nastaveném pokusu pouze dokládá jejich asociaci s působením jednotlivých léčiv, nikoliv konkrétně s jejich kardiotoxicitou. To, že byly vytipované miRNA popsány jako exprimované v srdeční tkáni, nutně neznamená (s ohledem na jejich komplementaritu k desítkám až stovkám targetů), že jejich hladiny v plasmě budou korelovat výhradně s kardiotoxicitou. Např. deregulaci miR-1, miR-133 či miR-34a nacházíme i my v našich hematonekologicky zaměřených studiích. Nebylo by vhodnější využití jiného modelu pro tento typ studie? Nezvažovala autorka například sběr krevních vzorků přímo od pacientů léčených těmito protinádorovými léčivy rozdělených do skupin pacientů s následně prokázanou kardiotoxicitou a bez ní?

4. Autorka uvádí možný potenciál miRNA molekul jako časných markerů či terapeutických cílů v patogenezi onemocnění. Existují tedy již nějaké miRNA (ať už v patogenezi obezity či kardiotoxicity), které by byly zkoumány nejen experimentálně, ale procházely již klinickou studií či byly dokonce klinicky využity? V tomto směru se o potenciálu miRNA mluví již cca 20 let, podařilo se ho tedy alespoň částečně opravdu naplnit, třeba u jiných typů onemocnění?

5. Disertační práce obsahuje řadu výsledků, proto by mě zajímalo, které z nich autorka pokládá za nejvýznamnější? Plánuje nějaké další rozpracování tématu disertační práce? Existuje nějaký konkrétnější potenciál klinického využití získaných poznatků?

Závěr:

Předložená disertační práce odpovídá nárokům kladeným na tento typ prací. Autorka prokázala schopnost samostatné vědecké práce. Doporučuji proto, aby byla disertační práce přijata k obhajobě a Mgr. Barboře Hanouskové byl následně udělen titul Ph.D.

V Praze 7.9.2021

Ing. Michaela Dostálová Merkerová, Ph.D.

Ústav hematologie a krevní transfuze, Praha