



UNIVERZITA KARLOVA 3. lékařská fakulta

Oponentský posudek disertační práce

Název práce:

**Epigenetická regulace genové exprese při nádorové progresi a latenci viru HIV-1
(Epigenetic regulation of gene expression in cancer progression and HIV-1 latency)**

Autor práce: Mgr. Denisa Kovářová

Univerzita Karlova, Přírodovědecká fakulta

Ústav molekulární genetiky AV ČR, Oddělení virové a buněčné genetiky

Cílem disertační práce bylo studium epigenetických regulací nezbytných pro vznik metastatické kapacity sarkomových buněk, pro udržení latence viru HIV-1 v CD4+ T-lymfocytech a pro vlastnosti seminomů.

Výstupem této disertační práce jsou 3 původní publikace a u jedné, týkající se vlivu genu *HOPX* na metastázování, je Mgr. Kovářová uvedena jako první autor. Ta vyšla v *Molecular Cancer Research* s impakt faktorem IF 4,502 (kvartil Q2). Další dvě vyšly v *Clinical Epigenetics* s impakt faktorem IF 4,987 (kvartil Q1) a v *Retrovirology* s impakt faktorem IF 3,417 (kvartil Q2). Všechny byly již mnohokrát citovány.

Samotná práce je rozdělena do desíti kapitol: 1. Úvod, 2. Cíle práce, 3. Literární přehled, 4. Materiál a Metody, 5. Výsledky, 6. Diskuze, 7. Závěry, 8. Podíl autora na výsledcích obsažených v disertační práci, 9. Použitá literatura (398), 10. Seznam příloh. Kapitolám předchází Prohlášení, Poděkování a grantová podpora, Abstrakt + klíčová slova (česky i anglicky), Obsah a Seznam použitých zkratk (s českým i anglickým vysvětlením, což hodnotím kladně). Četné obrázky (30) i tabulky (4) vhodným způsobem dokumentují celou práci.

Disertační práce obsahuje všechny náležitosti. Nejsou v ní zásadní formální chyby, i když se v ní objeví občas nějaký překlep. Je napsaná čtivým stylem. Teoretická část se logicky rozvíjí od obecného úvodu, popisujícího základní problematiku výzkumu, a je hlavně rozprostřena do literárního přehledu, který má tři podkapitoly: 1) Epigenetické regulace genové exprese, metylace DNA, 2) Progrese nádorů a metastázování, a 3) Proces replikace HIV-1 a možnosti terapie. Velice pozitivně hodnotím diskuzi, která je obsáhla a zahrnuje i vědecký rozhled o daném projektu a jeho budoucí směřování.

Předložená disertační práce se zabývá velice aktuálním tématem. Má vysokou odbornou kvalitu a precizní vědecké provedení. Logisticky popisuje celý průběh výzkumu a patřičně zdůvodňuje jednotlivé kroky a experimenty. Současně nabízí nové poznatky, co se týče podstaty metastázování či možnosti terapie nádorů.

Dotazy a připomínky k disertační práci:

Práce je psána srozumitelně. Výstupy a jejich uplatnění v praxi jsou jasně formulovány. Nemám zásadních připomínek. Mám několik spíše doplňujících dotazů:

- 1) V Literárním přehledu v rámci kapitoly Epigenetické regulace genové exprese, i když v názvu používáte množné číslo, zabýváte se pouze metylací DNA, přitom další dvě, modifikace histonů a nekódující RNA, jsou považovány za stejně důležité. Už samotný fakt, že během počátečních stádií embryogeneze dochází ke genomové demethylaci a opětné metylaci, jak sama uvádíte na straně 27, naznačuje nutnost vzájemné kooperace jednotlivých dějů. Můžete uvést příklad takové spolupráce mezi RNA interferencí (dlouhé či krátké nekódující RNA), histonovou modifikací a DNA metylací v problematice, které se věnujete a popisujete v disertační práci?
- 2) V Literárním přehledu v rámci kapitoly Progrese nádorů a metastázování na straně 29 píšete o sarkomech, že "Jejich sporadický výskyt vyvažuje fakt, že tvoří až 20% nově diagnostikovaných maligních nádorů u dětí a mezi ostatními typy nádorů představují největší riziko úmrtí v dětském nebo mladistvém věku." Je známo, které geny a vnější faktory hrají roli v etiopatogenezi lidských sarkomů?
- 3) V Literárním přehledu v rámci kapitoly Proces replikace HIV-1 a možnosti terapie uvádíte možnosti antiretrovirové terapie. Byly studovány i některé přírodní látky, které by mohly pozitivně ovlivnit léčbu?
- 4) Přesto, že práce je velice impozantní, jsou v ní drobné překlepy i technického rázu. Např. ve Výsledcích v popiskách obrázků: U obrázku 17A (není snižená exprese PR9692-shITGA4 oranžová, ale šedá), 17C (zvýšená exprese je u PR9692-E9-ITGA4 a není světle šedá, ale oranžová) - navíc oranžová měla být použita pouze u 17C a světle šedá u 17D a 17F. Obrázek 21B chybí (dle popisky) a uvedený obrázek 21B se vztahuje k popisce 21C. U obrázku 24C je popisek zcela chybný.
- 5) Na metastázování má jistě vliv nejenom fenotyp nádorových buněk, ale i stav imunitního systému jedince. Existuje nějaká zajímavá práce na toto téma?

Závěr: Disertace je prezentována třemi původními pracemi, z nichž jedna je prvoautorská, publikovaná v časopise s faktorem impaktu IF 4,502 a v kvartilu Q2. Disertační práce prokazuje předpoklady autora k samostatné tvořivé vědecké práci, a proto doporučuji udělení titulu „Ph.D.“.

Posudek vypracován: 24. 5. 2022

Prof. MUDr. Marie Černá, DrSc.
Ústav lékařské genetiky
3. LF UK