

**UNIVERZITA KARLOVA
FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ**

Katedra biologických a lékařských věd

Studijní program: Bioanalytická LDZ

Posudek oponenta diplomové práce

Rok obhajoby: 2024

Autor/ka práce: **Bc. Eliška Hrachovcová**
Vedoucí práce: PharmDr. Jana Urbánková Rathouská, Ph.D.
Konzultant/ka: Doc. RNDr. Pavlína Kušnierová, Ph.D.
Oponent/ka: PharmDr. Katarína Tripská, Ph.D.
Název práce: **Laboratorní diagnostika microRNA u různých diagnostických skupin**
Rozsah práce: 95 stran, 14 obrázků, 26 tabulek, 63 citací

Hodnocení práce:

- | | |
|--|-------------|
| a) Odborná úroveň a zpracování teoretické části: | velmi dobrá |
| b) Náročnost použitých metod: | výborná |
| c) Zpracování metodické části (přehlednost, srozumitelnost): | velmi dobré |
| d) Kvalita získaných experimentálních dat: | výborná |
| e) Zpracování výsledků (přehlednost, srozumitelnost): | velmi dobré |
| f) Hodnocení výsledků včetně statistické analýzy: | velmi dobré |
| g) Myšlenková úroveň a rozsah diskuse výsledků: | výborná |
| h) Srozumitelnost, výstižnost a adekvátnost závěrů: | výborná |
| i) Splnění cílů práce: | výborné |
| j) Množství a aktuálnost literárních odkazů: | výborné |
| k) Jazyková úroveň (stylistická a gramatická úroveň): | velmi dobrá |
| l) Formální úroveň práce (členění textu, grafické zpracování): | výborná |

Doporučuji diplomovou práci k uznání jako práci rigorózní

Případné poznámky k hodnocení:

Predložená diplomová práca je zameraná na identifikáciu nových miRNA cieľov pre diferenciálnu diagnostiku pacientov s aterosklerózou a demenciou, a na porovnanie miRNA expresie vo vzorkách séra a mozgomiešneho moku. Práca je prehľadná, zrozumiteľná a dobre štruktúrovaná. Jednotlivé časti na seba logicky nadväzujú, práca je doplnená adekvátnym množstvom obrázkov a tabuliek, a v práci sa objavuje len menšie množstvo preklepov. Pozitívne tiež hodnotím veľké množstvo zdrojov, ktoré autorka pri práci využívala.

Práci by som však vytkla väčšie množstvo nepresností. V abstrakte, diskusií a závere študentka používa názov primeru (hsa-miR-23a-3p-TT-PR1) namiesto názvu samotnej miRNA (hsa-miR-23a-3p). Po formálnej stránke sú citácie uvádzane až za tečkou, ďalej na str. 6 chyba za odstavcom citácia a u knižných citácií nie je špecifikovaná kapitola či strana, z kt. autorka čerpala. MCP-1 je uvádzaný ako adhézna molekula a nie ako chemokín (str. 8). V práci sa tiež objavujú nepresné formulácie, ku ktorým pravdepodobne došlo v rámci prekladu z anglickej literatúry ("mRNA sú chránené RNAzami pred degradáciou" namiesto "mRNA sú chránené pred degradáciou RNAzami" (str. 13), "metóda bola vyvinutá" namiesto "metóda môže byť vyvinutá" (str. 15), označenie poslednej fáze aterosklerózy ako

"precipitace") a potom zvláštne formulácie typu "Lidé zažívající více depresivních situací často opakovaně aktivují úroveň steroidů, která vede k poškození oblasti hipokampu." alebo "inhibitory mozkových cholinesteráz".

U experimentálnej časti, v kap. 6.1 sa nezhoduje popis nad tabuľkou s tým čo je uvedené v tabuľke u skupiny A, v kap. 6.4 je uvedený ID3EAL miRNA knowledge panel (1105264), ktorý odpovedá skupine B, ale nie je uvedený použitý panel pre skupinu A. Ten je okrajovo spomenutý asi až v kap. 7.1.4 pri zhrnutí výsledkov. Čo sa týka výsledkovej časti, tak v tabuľkách chyba popis jednotky u 2. a 3. stĺpca (priemer ochorenia a/alebo kontroly) a z textu nie je zrejme o akú jednotku/hodnotu sa jedná. Ďalej by určite bolo vhodné do tabuliek doplniť hodnotu smerodatnej odchyľky (čo by mohlo vysvetliť, prečo nie sú niektoré miRNA s vyššou fold-change signifikantné v porovnaní s inými miRNA, ktoré vykazujú nižšiu fold-change ale signifikantné sú). V niektorých tabuľkách je uvádzaná presná hodnota p-value, zatiaľ čo v iných tabuľkách už študentka uvádza len $p > 0.05$ - bolo by vhodné používanie rovnakého formátu.

Okrem spomenutých nedostatkov je praktická časť spracovaná kvalitne, s veľkým množstvom dát usporiadaných v prehľadných tabuľkách. Táto práca má tiež potenciál veľkého prínosu pre daný odbor a preto (aj navzdory väčšiemu množstvu nepresností popísaných vyššie) hodnotím prácu na výbornu, za predpokladu, že študentka dostatočne zodpovie na nasledujúce otázky.

Dotazy a pripomínky:

1. Môžete prosím upresniť o aké jednotky/hodnotu sa jedná v 2. a 3. stĺpci tabuliek, akým spôsobom ste postupovali pri výpočte fold-change a prípadne nejaký odborný článok, kde je táto metóda popísaná?
2. Môžete vysvetliť, prečo ste sa v tejto práci rozhodli porovnávať práve vzorky od pacientov s demenciou so vzorkami pacientov s Parkinsonovou chorobou a obdobne vzorky od pacientov s aterosklerózou a demenciou?
3. Na základe akých kritérií boli vybrané kontrolné vzorky a vzorky u pacientov s demenciou?
4. Môžete prosím vysvetliť, prečo ste pri spracovaní vzoriek séra u skupiny A používali 0.5 mL séra a 0.5 mL vody, zatiaľ čo u skupiny B ste použili 1 mL séra?
5. V Tab. 11 kde analyzujete kvalitu izolácie pre skupinu A, máte uvedený pomer A260/A280 v rozmedzí 0.7 - 1.6, pričom sama uvádzate, že aby mohli byť vzorky považované za čisté tak by mal byť tento pomer vyšší. Môžete prosím zdôvodniť, či aj napriek nižšiemu pomeru sú tieto vzorky vhodné na ďalšie meranie a teda že sú výsledky relevantné? Taktiež prosím vysvetlite, prečo v Tab. 22 tieto pomery uvedené nie sú.
6. V Tab. 21 máte v stĺpci NormF uvedené poradie 2 pre miR-151a aj pre miR223, pričom v odpovedajúcom grafe nie je miR-151a ani znázornená. Môžete to prosím objasniť?
7. V kap. 7.4 ste vybrali 6 miRNA spoločných pre obe skupiny. Môžete vysvetliť, na základe akých kritérií ste postupovali, keďže vo viacerých prípadoch (miR-23a, miR-30b, miR146a) sa nejedná o miRNA, ktoré by sa vyznačovali najvýraznejšou zmenou fold-change a najnižšou hodnotou p-value?
8. Ako interpretujete fakt, že niektoré miRNA (napr. miR-146a alebo miR-151a-3p) sú zmenené u pacientov s demenciou v skupine B ale nie v skupine A?
9. Ako by ste vysvetlili nezrovnalosti v expresii určitých miRNA (napr. miR-29c-3p, miR-17-5p, miR-223-3p) pozorovaných vo Vašej práci v porovnaní s citovanými štúdiami?

hodnocení, práce je: výborná

k obhajobě: doporučuji

V Hradci Králové

31. května 2024

podpis oponenta/ky