



Posudek disertační práce

Studijní program:	PREVENTIVNÍ MEDICÍNA A EPIDEMIOLOGIE
Student/ka:	Mgr. Petr Holý
Název disertační práce:	Výzkum onkogenomických faktorů pro prognostiku a prevenci karcinomů prsu, ovaria a kolorekta
Školitel (jméno, adresa):	Doc. RNDr. Pavel Souček, CSc., Státní zdravotní ústav v Praze a Lékařská fakulta v Plzni, Univerzita Karlova
Oponent (jméno, adresa) :	Doc. Mgr. Pavel Bouchal, Ph.D., Přírodovědecká fakulta, Masarykova univerzita, Kamenice 5, 62500 Brno
Hodnocení laskavě proveďte slovním komentářem a dále písmenem X do odpovídající šedé buňky.	

1. Forma disertační práce		
a) samostatná práce zpracovaná		X
b) tematicky uspořádaný soubor uveřejněných prací s komentářem a diskuzí		
Jsou-li v souboru uveřejněných prací dle písm. b) práce, jichž je doktorand spoluautorem, je vymezen podíl doktoranda a je doložen prohlášením spoluautorů o jeho přínosu k jednotlivým pracím?	Ano	
	Ne	

2. Aktuálnost tématu disertační práce			
X	Práce je velmi aktuální		... aktuální
			... není aktuální
Zdůvodnění a komentář: Práce Mgr. Petra Holého se zabývá využitím metod sekvenování nové generace ke studiu oxysterolové signalizace u lumenálních nádorů prsu, k analýze nádorů ovaria s rozdílnou citlivostí na terapii platinovými deriváty a studiu mutačních profilů kolorektálních karcinomů a jejich synchronních jaterních metastáz. Specificky se pak věnuje biologické úloze oxysterolů u hormonálně dependentních, lumenálních nádorů prsu. Téma práce považuji za vysoce aktuální, použití high-throughput sekvenování a následných bioinformatických analýz je aktuálně "state-of-the-art" technologií a studovaná problematika je klinicky vysoce závažná. Teoretická část disertace odpovídajícím způsobem popisuje epidemiologii studovaných malignit, jejich diagnostiku, klasifikaci a léčbu, dále se detailně zabývá použitou metodologií – principem sekvenování na platformě Illumina a konečně i biochemií oxysterolů. Je zpracována příkladným způsobem na vysoké odborné a textové úrovni, což potvrzuje autorův hluboký vhled do problematiky a nemám k ní žádné výhrady.			

3. Cíle a hypotézy disertace – definice, adekvátnost, náročnost			
	Vynikající	X	Průměrná kvalita
			Podprůměrná kvalita
Zdůvodnění a komentář: Cíle práce jsou jasně stanoveny, jsou adekvátní a náročné. Naproti tomu k definici vědeckých hypotéz bych měl následující poznámku: hypotéza by měla být definována na základě dosavadních znalostí tak, aby ji práce buď jednoznačně potvrdila, nebo vyvrátila (=potvrdila nulovou hypotézu), což u hypotéz tak, jak jsou v práci formulovány, většinou není dost dobře možné. Prosím uchazeče, aby se pokusil hypotézy lépe formulovat v rámci své prezentace.			

--

4. Metody využití v disertaci - jejich volba, adekvátnost, náročnost

X	Adekvátní, náročné	<input type="checkbox"/>	Hraniční, méně náročné	<input type="checkbox"/>	Neadekvátní
----------	--------------------	--------------------------	------------------------	--------------------------	-------------

Zdůvodnění a komentář:

Metody jsou adekvátní, náročné. Ve srovnání s detailním popisem laboratorních a bioinformatických metod mi v metodické části práce chybí alespoň základní popis kohort patientských vzorků a použitého klinického materiálu (včetně vstupních a vylučovacích kritérií) ve vztahu k řešeným klinickým otázkám. Toto je třeba dohledávat v příložených publikacích, neboť výsledková část již tuto znalost v některých kapitolách předpokládá. Autor na pracovišti zavedl a optimalizoval metodiku přípravy knihoven pro DNA sekvenování, čímž prokázal schopnost samostatné vědecké práce, přičemž výsledky jsou součástí předložené série publikovaných prací s jasnými biologicky a klinicky relevantními závěry.

5. Postup řešení problému a výsledky disertace

<input type="checkbox"/>	vynikající	X	nadprůměrné	<input type="checkbox"/>	průměrné	<input type="checkbox"/>	podprůměrné	<input type="checkbox"/>	slabé
--------------------------	------------	----------	-------------	--------------------------	----------	--------------------------	-------------	--------------------------	-------

Zdůvodnění a komentář:

Postup řešení všech předložených okruhů je adekvátní jak z hlediska použité laboratorní technologie, tak i bioinformatické analýzy, což dále dokládají úspěšné publikace. Ačkoliv chápu problémy spojené s aplikací statistických testů u „multiomics“ analýz, domnívám se, že v práci by bylo lépe se vyvarovat sdělení typu „(daná závislost) byla asociována s kratším přežíváním“, ale „výsledek nebyl signifikantní po korekci na mnohonásobné testování.“ (str. 67). Je správné na základě daného experimentálního designu vybrat nejvhodnější statistický postup a jeho výsledky následně přijmout a prezentovat. Na druhé straně se autor ve vlastní práci detailně věnuje aspektům, které nejsou ve vlastních publikacích uvedeny, čímž úspěšně deklaruje detailní pochopení problematiky.

Konkrétní přínos doktoranda / doktorandky jsou shrnuty na str. 102-105 disertačního spisu pro každou z 12 předložených publikací resp. rukopisů. Autorovy příspěvky zahrnují rešerši, přípravu sekvenačních knihoven a bioinformatickou analýzu. V případě čtyř rukopisů dále sepsání kompletního draftu rukopisu a v případě dalších tří rukopisů jejich částí. Uvedené podíly jednoznačně dokládají autorský podíl uchazeče a schopnost samostatně vědecky pracovat.

--

6. Hlavní výsledky, nové poznatky, přínosy a jejich původnost – výsledky jsou:							
X	původní		převážně původní		zčásti původní		nejsou původní
Zdůvodnění a komentář (přehled hlavních výsledků): Za klíčové nové poznatky považuji interakční síť vycházející z korelační analýzy mRNA oxysterolových genů a miRNA a dále vztah frekvence mutací u tzv. „PR setu“ genů s PR pozitivitou nádorů prsu. Velmi zajímavé je dále zjištění, že pacientky s karcinomem ovaria sensitivní vůči PARP inhibitorům měly vyšší mutační zátěž v genu <i>TP53</i> , ale nižší v genech Hippo dráhy. Slibná je i identifikace mutací v genech <i>ATM</i> , <i>DNAH11</i> a <i>MUC5C</i> jako negativních prognostických faktorů v metastázách kolorektálního karcinomu, třebaže výsledky vyžadují další validaci. Tyto a další experimentální výsledky uvedené v práci byly publikovány resp. data byla zveřejněna v uvedených databázích mimo kontrolu autorů; jedná se tedy jednoznačně o původní výsledky.							

7. Uplatnitelnost výsledků disertační práce pro rozvoj oboru Preventivní medicína a epidemiologie, případně příbuzných oborů									
X	vynikající		nadprůměrná		průměrná		podprůměrná		slabá
Zdůvodnění a komentář: Vzhledem k počtu a kvalitě publikací práce jednoznačně přispívá k rozvoji oboru na mezinárodní úrovni, a to mimo jiné zveřejněním interpretovaných NGS dat ze vzorků onkologických pacientů léčených v českých zdravotnických zařízeních.									

8. Splnění cílů disertační práce									
X	Vynikající		Nadprůměrné		Průměrné		Podprůměrné		Nesplněno
Zdůvodnění a komentář: Cíle disertační práce jsou jednoznačně splněny na výborné úrovni, což dokládá mimo jiné počet a kvalita publikací.									

--

9. Publikování výsledků disertační práce - výsledky publikovány							
<input checked="" type="checkbox"/>	byly	<input type="checkbox"/>	byly částečně	<input type="checkbox"/>	Nebyly	<input type="checkbox"/>	Nelze zjistit
<p>Zdůvodnění a komentář:</p> <p>Výsledky disertace byly publikovány v pěti příložených článcích v časopisech s IF (všechny v Q1 nebo Q2 daného oboru dle IF), z nichž u jedné rozsáhlé přehledové práce a jedné experimentální práce je uchazeč prvním autorem. Uchazeč je dále prvním autorem dvou rukopisů, které jsou součástí disertační práce, z nichž jeden již byl recentně publikován v Molecular Oncology (Q1). Uchazeč je dále spoluautorem pěti publikací souvisejících s tématem, které nejsou podkladem disertační práce v časopisech s IF (všechny Q1 nebo Q2). Publikoací aktivitu autora proto hodnotím jako vysokou a překračující obvyklá kritéria pro udělení titulu Ph.D.</p>							

10. Formální úprava disertační práce a její jazyková úroveň:									
<input checked="" type="checkbox"/>	vynikající	<input type="checkbox"/>	nadprůměrná	<input type="checkbox"/>	Průměrná	<input type="checkbox"/>	podprůměrná	<input type="checkbox"/>	slabá
<p>Zdůvodnění a komentář:</p> <p>Formální úprava disertační práce je na vysoké úrovni. Lepšímu čtení by podle mého názoru prospělo jednak uvedení výsledkových odstavců větou deklarující motivaci dané analýzy, jednak doplněním parciálních shrnutí na konci jednotlivých kapitol, které by výsledky vhodně provázaly s klinickou otázkou. Jazykově je práce na vynikající úrovni.</p>									

11. Celkové hodnocení disertační práce									
Tvůrčí schopnosti v dané oblasti výzkumu student/ka:	Prokázal/a	<input checked="" type="checkbox"/>	Neprokázal/a	<input type="checkbox"/>					
Požadavky standardně kladené na disertační práce v daném oboru práce:	splňuje	<input checked="" type="checkbox"/>							
	nesplňuje	<input type="checkbox"/>							
Disertační práce požadavky uvedené v § 47 odst. 4 zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách:	splňuje	<input checked="" type="checkbox"/>							
	nesplňuje	<input type="checkbox"/>							
Celková úroveň disertační práce je:									
<input checked="" type="checkbox"/>	vynikající	<input type="checkbox"/>	nadprůměrná	<input type="checkbox"/>	Průměrná	<input type="checkbox"/>	podprůměrná	<input type="checkbox"/>	slabá
<p>Zdůvodnění a komentář:</p> <p>Disertační práci Mgr. Petra Holého hodnotím jako velmi zdařilé dílo ilustrující autorův přínos v zavedení metodiky tvorby sekvenčních knihoven na pracovišti, k provedení bioinformatických analýz a k publikaci výsledků v sérii článků v kvalitních časopisech. Je snad jen škoda, že práce není sepsána v anglickém jazyce, což by dále posílilo její mezinárodní dopad. Vzhledem k autorově vysoké publikační aktivitě bych na jeho místě</p>									

volil spíše formu souboru uveřejněných prací doplněných komentářem a diskusí. Uvedené připomínky však nijak nesnižují kvalitu práce a necht' jsou spíše doporučením autorovi do další fáze jeho odborné kariéry.

12. Vyjádření k výsledku kontroly originality práce

Kontrola originality práce odhalila minimální podobnosti typu shody v citacích, poděkováních projektům a dílčí věty z oblasti popisu metodik pocházejících převážně z textů od členů výzkumného týmu, v němž uchazeč působí. Citace jsou v práci vyvedeny příkladně v jednotném formátu v souladu s ČSN. Celkově lze práci považovat jednoznačně za originální. Za formálně ne úplně správné bych snad považoval jen dvě citace na str. 33, kde je na místě autora uvedena „Masarykova univerzita“, resp. „Analýza Masarykovy univerzity“.

13. Disertační práci k obhajobě

doporučuji



nedoporučuji

14. Otázky k obhajobě

1. Na str. 51 resp. 53 zmiňujete kvantifikaci DNA resp. kontrolu kvality během příprav a po přípravě knihoven z DNA i RNA pomocí přístroje Bioanalyzer 2100 (Agilent) a fluorescenčně s využitím přístroje Qubit 4 (Thermo Fisher Scientific). Máte k dispozici data, jak výstupy z obou metod vzájemně korelují?
2. Na str. 55 zmiňujete použití nástroje ComBat pro zjištění resp. korekci tzv. „batch“ efektů. Vysvětlete, jak významné „batch“ efekty jste ve vašich datech zjistili, čím mohly být způsobeny a jak jste data tímto nástrojem korigovali.
3. Na str. 58 uvádíte, že „pro účely hledání statisticky signifikantních asociací byly varianty nejprve filtrovány tak, aby jejich frekvence v kohortě dosahovala alespoň 5%, data existovala pro alespoň 90% vzorků, a aby data neodporovala zákonu Hardyho a Weinberga (Waples 2015). Můžete vysvětlit poslední kritérium a popsat, jak bylo aplikováno?
4. Jak si vysvětlujete vyšší frekvenci mutací většiny z nejmutovanějších genů u primárních nádorů kolorektálního karcinomu oproti jaterním metastázám (obr. 35C, str. 81)?
5. Na str. 87 zmiňujete analýzu přežití s tím, že většinu asociací se nepodařilo zvalidovat v TCGA souboru (odkaz na přílohu VI). Mně by však spíše zajímalo, jaké asociace se zvalidovat podařilo. Můžete doplnit?
6. Zvýšenou frekvenci mutací ve vašem tzv. „PR setu“ genů souvisejících s progesteronovým receptorem u PR negativních tumorů oproti pozitivním dejte prosím do souvislosti obecně s biologii nádorů prsu.

Datum: 28.8.2023

Jméno a podpis oponenta:

Bouchal

.....
Doc. Mgr. Pavel Bouchal, Ph.D.