



**Zápis o konání obhajoby disertační práce v oboru Gynekologie
a porodnictví**

MUDr. Jan Vodička, lékař Porodnicko-gynekologické kliniky LF UP a FNOL, student kombinované formy doktorského studijního programu *Gynekologie a porodnictví* na LF UP v Olomouci

Téma disertační práce: „**Proteomika cervikálního hlenu**“

Obhajoba se konala v Olomouci dne 22. února 2023 od 9:00

Komise:

předseda: prof. MUDr. Milan Kudela, CSc. ✓

místopředseda: prof. MUDr. Marek Ľubušký, Ph.D. ✓

členové: MUDr. Petr Dzvinčuk, Ph.D. ✓

doc. MUDr. Robert Hudeček, Ph.D. ✓

MUDr. Radim Marek, Ph.D. OHLOVEN

prim. MUDr. Martin Petrenko, CSc., MBA ✓

Školitel: prof. MUDr. Radovan Pilka, Ph.D. ✓

Oponenti:

prof. Ing. Jan Vacek, Ph.D. - Ústav lékařské chemie a biochemie LF UP ✓

prim. MUDr. Martin Petrenko, CSc., MBA - I. gynekologicko-pôrodníka klinika LF UK a UNB ✓

Předseda komise přednesl stručnou charakteristiku uchazeče, hodnocení školitele a vedoucího školicího pracoviště. Poté uchazeč vyložil podstatný obsah své disertace. Oponenti přednesli své posudky. Ve vědecké rozpravě vystoupili: viz příloha – zápis o diskusi.

Hlasování se účastnilo ...⁵... členů komise. Kladně hlasovalo⁵... členů, záporně⁰... členů, neplatných lístků bylo odevzdáno⁰...

Usnesení:

Přítomní členové komise tajným hlasováním rozhodli, že **MUDr. Jan Vodička** obhájil/neobhájil* disertační práci a doporučili/nedoporučili* udělení akademického titulu doktor ve zkratce Ph.D. dle § 47 Zákona o vysokých školách č. 111/98 Sb.

.....
prof. MUDr. Milan Kudela, CSc.
předseda komise

*nehodící se škrtněte

Otázky oponentů prim.Petrenko ,

1. „ u souboru žen s prováděnou intrauterinní inseminací byl odběr cervikálního hlenu proveden bezprostředně před výkonem. Jednalo se o kontrolní soubor 9 žen ve spontánním ovulačním cyklu bez indukce ovulace antiestrogeny, bez triggeringu ovulace hCG.Jednalo se o nativní cykly“
2. „odpovězeno na dotaz bylo již v první odpovědi“
3. „ proteomická analýza cervikálního hlenu vytváří nové perspektivy k hledání biomarkerů pro různé patologie ženských reprodukčních orgánů. Současně prezentované výsledky několika klinických studií jsou zatím v experimentální fázi klinických testů“
4. „ano, náš projekt směřujeme ke klinickému využití, kdy v případě nálezu vhodných kandidátních proteinů pro receptivní endometrium plánujeme využít metodu přímo v léčbě neplodnosti asistovanou reprodukcí. Vzhledem k neinvazivitě vyšetření je možno realizovat embryotransfer v daném cyklu bez nutnosti kryokonzervace a odložení transferu“
5. „odpověď není jednoduchá, vše záleží na multioborové spolupráci s kolegy v laboratoři, s biostatistiky, a následně i na výsledcích validační části studie, která by nutně navazovala. Rovněž i patentizace může prodloužit časový interval zavedení metody do praxe. Odhaduji jen rámcově na několik roků“
6. „ analytická fáze v experimentální projektu má náklady okolo 7,000 Kč na analýzu jednoho vzorku, při průkazu konkrétních kandidátních proteinů, kterých bude odhadem jen několik desítek (oproti tisícům nyní v experimentu) lze použít finančně méně nákladné vyšetření např. Elisa testy a snížit cenu. U vyšetření receptivity endometria genomicky (ERA test) se pohybuje cena s provizemi pro laboratoře a logisty okolo 20.000 Kč, ale vlastní náklady na analýzu genomického profilu endometria jsou nižší a zhruba stejné jako při naší proteomické analýze“

Otázky prof. Vacek

1. „V současné experimentální fázi projektu neprovádíme kvantifikaci jednotlivých proteinů ve vzorku cervikálního hlenu. Tyto kvantifikace by bylo možné provádět značenými izotopy nebo čipovou technologií. Jsme si vědomi, že ve validační fázi studie budeme kvantifikaci provádět. Budeme konzultovat s analytiky“
2. „ Je nesnadné metodologicky uchopit a analyzovat posttranslačně modifikované proteiny, v daném experimentálním modelu jsme se s tímto faktem vyrovnali a při analýze takto změněné proteiny ignorovali“
3. „ Ano i naše výsledky prokazují intraindividuální variabilitu , hlavní cílem naší studie bylo v úvodní fázi standardizovat postupy při odběru a popsat proteom cervikálního hlenu, čehož jsme dosáhli“

Diskuze členů komise.

Prim.Petrenko :

Sledovali jste imunologické vlastnosti cervikálního hlenu ? Uvažovali jste o analýze menstruační krve pro využití u implantačního selhávání v asistované reprodukci ?

- „ V našem souboru jsme prokázali více jak 28 % imunoglobulinů (z celého proteinového spektra) zapojených do procesů transformace endometria , implantace a ochrany proti infekcím v ženském genitálním traktu. Cervikální hlen má významnou imunologickou úlohu . O analýze menstruační krve jsme neuvažovali“

Prof.Vacek

V diskuzi poukázal na vhodnost kvantifikace proteinů a standardizaci s ohledem na plánovanou validační část studie a její publikovatelnost v prestižních časopisech.

Prof.Pilka

Vstupuje do diskuze a obznamuje členy komise s připravovanou validační částí studie „Biomer“

Doc. Hudeček Jaké metody pomohou vyselektovat výsledné významné proteiny ?

„ Předpokládáme dle pilotních dat skupinu 40-50 kandidátních proteinů ve vzorku cervikálního hlenu, které plánujeme cíleně detekovat méně náročnými a méně nákladnými analytickými metodami.“

Do diskuze se zapojuje Doc.Dostál (host spoluřešitel studie) , který charakterizuje soubor žen s předpokládanou dobrou receptivitou jako modelovou skupinou pro studii „Biomer“. V daném souboru předpokládáme optimální receptivitu endometria a s ohledem na tuto skutečnost i nález kandidátních proteinů.

Prof.Kudela Jaké jsou finanční náklady na praktické zavedení do praxe ? Kdo bude hradit ?

„ V případě zavedení do praxe budou náklady v řádu okolo 10.000 Kč, nelze počítat s úhradou z veřejného zdravotního pojištění“

Prof. Vacek Do diskuze – navrhuje provést vyšetření proteomu cervikálního hlenu u zdravé populace, jako kontrolní skupiny .

„kontrolní skupinu tvořily ženy absolvující léčbu nitroděložní inseminací v přirozeném cyklu“

Prim.Petrenko Zohlednili jste proteiny endometriálního mikrobiomu v analýze

„ tyto proteiny jsme zvlášť nespecifikovali“

Doc.Dostál se zapojuje do diskuze - proteiny mikrobiomu lze odfiltrvat díky znalosti proteomické mapy a atlasu