

Prim. MUDr. Martin Petrenko, CSc., MBA.
1.gynekologicko-pôrodnická klinika LFUK a UNB
Antolská 11, 85107 Bratislava, Slovenská republika

O p o n e n t s k ý p o s u d o k **dizertačnej práce**

Doktorand: MUDr. Jan Vodička
Školiteľ: Prof. MUDr. Radovan Pilka, Ph.D.
Pracovisko: Porodnicko-gynekologická klinika LF UP, Olomouc

Téma práce: **Proteomika cervikálneho hľenu.**

1. Úvod

Dizertačná práca MUDr. Jana Vodičku na tému „Proteomika cervikálneho hľenu“ tvorivým spôsobom prezentuje najnovšie teoretické aj praktické poznatky zo skúmanej problematiky. Citovaná literatúra je riadne prepojená s textom práce a použité tabuľky a grafy vo výsledkoch sú vlastného pôvodu.

2. Cieľ práce a jeho naplnenia – aktuálnosť tematiky

Možno konštatovať, že oblasť zamerania hodnotenej práce je v súčasnosti veľmi aktuálna, pretože v duchu najnovších poznatkov otvára ďalšie možnosti rozvíjania a prehlbovania možností vyšetrení v diagnostike nielen porúch reprodukcie, ale perspektívne i ďalších ochorení genitálu ženy.

Práca sa zameriava hlavne na proteomickú charakteristiku cervikálneho hľenu - ide o sofistikovanú formu základného výskumu. Cieľom je vyhodnotiť jeho zloženie a identifikovať jeho jednotlivé zložky ako potenciálne biomarkery niektorých ochorení ženského genitálu. Značnou výhodou je, že ide o neinvazívny druh vyšetrenia. Základným cieľom bolo čo najpodrobnejšie zisťovanie počtu a druhu proteínov. Autor s kolektívom v tejto práci zistil u 19 žien v súbore až 4370 proteínov. Zameral sa na dve skupiny žien – ženy liečené pre neplodnosť metódou IUI a druhá skupiny boli ženy, liečené metódou IVF. Táto tematika je a do budúcnosti bude jednoznačne aktuálna.

3. Obsahové zameranie – metódy spracovania

Štruktúra práce rešpektuje logiku a stanovený prístup k spracovaniu témy. Práca má 14. kapitol (spolu 49 strán bez príloh, ktoré sú publikované in extenso a nemajú očíslované strany, čo je samozrejmé). Pätnásta kapitola práce sú práve prílohy – chápem ich ako významné publikácie autora a spolupracovníkov na zvolenú tému tejto dizertačnej práce. Ide najmä o publikácie v časopise s IF a recenzovaných časopisoch. Jednotlivé kapitoly dizertačnej práce na seba vhodne nadväzujú a tvoria základné obsahové celky. Spracovanie vlastného textu v spojení s literárnymi citáciami poukazuje, že autor má schopnosť spájať vlastné vedecké zistenia s poznatkami z literatúry a vo vzájomnej súvislosti ich interpretovať.

Po predhovore a stručnom úvode nasledujú druhá až piata kapitola, v ktorých sa autor zaoberá postupne anatómiou, embryonálnym vývojom maternice, jej histologickou stavbou

a jej fyziológiou. Sem je zahrnutá podkapitola o endometriálnom cykle, ktorá sa podrobnejšie venuje hormonálnej regulácii cyklu a hlavne endometriálnej receptivite. Tá je spracovaná veľmi podrobne a odráža súčasné poznatky o endometriu a jeho úlohe v súvislosti s metódami asistovanej reprodukcie, ktoré kandidát v práci primárne vyhodnocoval.

Od šiestej kapitoly sa už autor venuje hlavnému predmetu skúmania – cervikálnemu hlienu. V úvode tejto kapitoly opisuje biochemické zloženie, štruktúru cervikálneho hlienu a jeho cyklické zmeny. Ku koncu šiestej kapitoly ešte doplnil mechanizmus a riadenie sekrécie cervikálneho hlienu včítane jeho vlastností.

Celá siedma kapitola je venovaná proteómu cervikálneho hlienu, Ide o hlavnú myšlienku celej dizertácie a sú tu citované najdôležitejšie publikácie z literatúry i jeho vlastné zistenia (so spolupracovníkmi z molekulárnej biológie).

V ôsmej kapitole autor stručne uviedol cieľ práce (viď nižšie v tomto posudku) a od deviatej kapitoly už podrobne rozoberá materiál a metódy – opisuje súbor a výber pacientok, spôsob odberu hlienu, jeho spracovanie v laboratóriu. Veľmi podrobne je opísaná metodika vyhľadávania proteínov, zaistenie kontroly kvality a štatistické spracovanie výsledkov.

V desiatej kapitole uvádza výsledky – ja uvádzam aspoň stručne - signifikantne vyšší počet proteínov sa našiel v skupine hormonálne stimulovaných pacientok – čiže liečených pomocou IVF.

V jedenástej kapitole – čiže v diskusii – autor veľmi podrobne analyzuje zistené výsledky, porovnáva ich s literárnymi údajmi a zameriava sa na rozdiely medzi IUI a IVF pacientkami. Na štatistické vyhodnocovanie autori používajú špecifické štandardizované metódy. Validitu týchto metód, najmä v molekulárnej genetike, kde nie som odborníkom ani náhodou, nedokážem posúdiť (som gynekológ, ktorý sa venuje reprodukčnej medicíne ako kliník, včítane primeraného vzdelania a praxe, ale na posúdenie laboratórnych postupov v molekulárnej genetike a ich štatistické vyhodnotenie si netrúfam. Keďže som informovaný, že ide o renomované pracovisko, nemám dôvod pochybovať o ich výsledkoch.

Kapitola 13. – Zoznam použitej literatúry obsahom zodpovedá požiadavkám, väčšina citácií nie je starších ako 10 rokov.

Škoda však, že formálna stránka citácií je nejednotná – viď môj mierne negatívny komentár nižšie – v odstavci 5. tohoto posudku.

V štrnastej kapitole je zhrnutá publikačná činnosť autora: jeden článok v súvislosti s témou v časopise s IF z roku 2023, jeden článok v súvislosti s témou v recenzovanom časopise tiež z roku 2023, ďalej sedem prehľadových publikácií v súvislosti s témou a je spoluautor jednej prehľadovej publikácie, nesúvisiacej s témou.

Na záver dizertačnej práce sú pripojené ešte najdôležitejšie publikácie autora in extenso. Nechcem poučovať, možno sa teraz mylím. Odporúčam preto MUDr. Vodičkovi zvýšiť svoju publikačnú aktivitu (nielen na tému „cervikálny hlien“), ale určite publikuje nielen prehľadové, ale aj pôvodné práce, alebo aj zaujímavé kazuistiky, najmä keď pracuje na renomovanej univerzitnej klinike. Chápem, ktoré práce sa „počítajú“ do ďalšieho vedeckého rozvoja, ale ani „cvičenie“ na prehľadových a iných menej hodnotných prácach nie je na škodu. Cibí to ducha a cvičí publikačnú aktivitu.

4. Výsledky dizertačnej práce

Na základe predloženej práce a jej výsledkovej časti môžem konštatovať, že autor vie stanoviť ciele práce, zostaviť súbor, spracovať, analyzovať výsledky výskumu a porovnať ich s dostupnou svetovou literatúrou.

5. Formálne náležitosti a úprava

Po formálnej stránke je práca napísaná na zodpovedajúcej úrovni. Oceňujem celkovú logickú koncepciu štruktúrovania práce.

Práca je podložená množstvom recentnej zahraničnej literatúry, domáca literatúra je zastúpená v menšej miere. To sa však dá vysvetliť faktom, že ide o vysoko špecifickú problematiku, ktorou sa na domácej pôde zaoberá minimum pracovísk.

K formálnej stránke práce si dovoľím mať niekoľko kritických poznámok.

Za jeden z nedostatkov považujem chýbanie číslovania strán hneď v úvode v obsahu, sú tu uvedené len názvy hlavných kapitol a podkapitol (kapitoly ani podkapitoly v obsahu dokonca ani nie sú očíslované !!!). Ak chce čitateľ nájsť konkrétnu kapitolu, či podkapitolu, musí intuitívne listovať, čo dosť zdržuje štúdium textu. Ide o dosť závažnú formálnu chybu. Ak si chce čitateľ nájsť nejakú konkrétnu kapitolu, alebo podkapitolu, prelistuje si bohužiaľ celú prácu a nakoniec to určite nájde.

Ďalší závažný nedostatok - pomerne často sa vyskytujúce spojenie dvoch, alebo viacerých slov bez medzier. Napríklad v článku „Dvořan M. a kol. „Implantace a diagnostika receptivity endometria“, Čes. Gynek. 2018 – posledný článok na konci práce je text práce jednoliaty, bez medzier, čím sa stáva prakticky nečitateľným.

Najviac pravopisných chýb je v literárnych citáciách – niekde sú prítomné medzery medzi písmenami v menách, niekde chýbajú, rovnako je to i s bodkami a čiarkami. Niekde nie sú od seba oddelené jednotlivé citácie – napr. číslo 30. a 31., inde naopak sú medzi riadkami dve medzery namiesto jednej. – napr. číslo 9. a 10. Častou chybou je používanie rôznych fontov písma v zozname literatúry. Taktiež je často nerovnaký „odskok“ prvého písmena názvu práce od poradového čísla práce.

Takéto veľké množstvo formálnych a pravopisných chýb znižuje hodnotu inak obsahovo aj štylisticky starostlivo spracovanej práce.

Nie som si istý, či si pán doktor Vodička pred zviazaním práce do papierovej podoby, ale hoci aj do formátu *pdf vôbec prekontroloval, formálnu stránku práce (pravopis, štylistiku, grafickú úpravu písma (veľkosť, fonty) atď. Je toho veľa na opravovanie.

Ak zostane autorovi čas na pravopisné a grafické kultivovanie práce, vrelo by som to odporúčal.

6. Návrhy, pripomienky a otázky pre autora pri obhajobe

V rámci diskusie si dovoľujem vzniesť niektoré otázky, ktoré môžu byť podnetom stanoviska komisie, alebo vysvetlenia zo strany autora:

1. Z textu vyplýva, že súbor 19 pacientok, liečených pre neplodnosť bol cervikálny hlien odobratý u 10 žien a u pacientok liečených metódou IVF u 9 pacientok – v oboch prípadoch tesne pred IUI, alebo odberom oocytov. V súbore s IUI bola použitá stimulácia trebárs pomocou klomifencitrátu, alebo išlo o natívne cykly ?
2. Ak cykly s IUI boli bez stimulácie – natívne – odoberal sa hlien ešte pred podaním HCG ? Dali by sa teda tieto cykly považovať za kontrolný súbor bez akéhokoľvek hormonálneho zásahu pred odberom hlienu ? V práci je uvedené, že hlien bol odoberaný „tesne“ pred IUI. HCG sa podáva obvykle 36 hodín pred IUI, čo nie je až tak tesne.
3. Pri diagnostike, resp. diferenciálnej diagnostike ktorých ochorení ženského genitálu (okrem neplodnosti) môžu byť do budúcnosti v praxi využité poznatky získané v tejto práci ?

4. Ide o neinvazívne vyšetrenie (na rozdiel od ERA). Zrejme sa dá sa do budúcnosti počítať aj s neinvazívnym vyšetrením receptivity endometria – implantačného okienka hneď v konkrétnom cykle ?
5. Dá sa aspoň približne odhadnúť časový horizont uvedenia do praxe rutinných vyšetrení proteomiky cervikálneho hlienu ?
6. Dá sa aspoň približne a predbežne porovnať finančná náročnosť uvedených laboratórnych metód s momentálne používanými metódami ? (ERA)

7. Záver

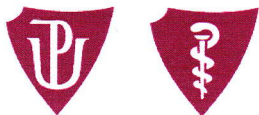
Doktorandská dizertačná práca už samotnou témou aj svojim originálnym vypracovaním je vysoko aktuálna a ako celok je prínosom do problematiky diagnostiky molekulárno-genetického zloženia cervikálneho hlienu najmä z pohľadu základného výskumu hlavne v súvislosti s možnosťami zisťovania receptivity endometria pomocou najmodernejších neinvazívnych laboratórnych metód, ale aj v záujme objasnenia pôvodu iných ochorení ženského genitálu.

Verím, že zaradenie MUDr. Vodičku do interdisciplinárneho kolektívu olomouckej univerzity, ktorý vypracoval širšiu platformu na výskum cervikálneho a endometriálneho prostredia na skutočne najvyššej vedeckej aj technickej úrovni pomocou „grantov“ a ďalšej podpory základného výskumu bolo pre MUDr. Vodičku výrazne prospešné do budúcej vedeckej práce v tejto oblasti nášho odboru. V spojení s výsledkami Vašich spolupracovníkov na špičkovej laboratórnej úrovni, ktoré povedú k využitiu týchto poznatkov v našej praxi v reprodukčnej gynekológii bude MUDr. Vodičku motivovať k ďalšej plodnej spolupráci v tejto oblasti. Držím mu palce a prajem veľa úspechov v ďalšom štúdiu telesných tekutín ženského genitálu.

Táto skutočnosť mi umožňuje konštatovať, že dizertačná práca MUDr. Jana Vodičku spĺňa kritériá kladené na tento druh práce a navrhujem, aby bola prijatá pre ďalšie dizertačné konanie.

V Bratislave 27. 1 2023

prim. MUDr. Martin Petrenko, CSc. MBA



Předseda oborové rady

Vážený pan, prof. MUDr. Radovan Pilka, Ph.D.

Věc: **Posudek doktorské práce MUDr. Jana Vodičky**

V Olomouci dne 23. 1. 2023

Předložená disertační práce se zabývá vývojem metodologie pro sledování proteomu resp. potencionálních proteinových biomarkerů ve vzorcích cervikálního hlenu. Práce obsahuje originální výsledky a je přehledně členěna ve formě literárního přehledu a stručného komentáře k publikované studii. Práce obsahuje 76 literárních odkazů a seznamuje čtenáře s biomedicinským výzkumem a aplikací proteinových biomarkerů pro klinicko-diagnostické účely v oboru gynekologie, případně embryologie a asistované reprodukce. Disertační práce se odkazuje na deset publikovaných studií, u čtyř je aspirant prvním autorem.

Na základě literárního přehledu mohu konstatovat, že aspirant detailně zpracoval problematiku po stránce teoretické. Taktéž komentáře k publikovaným výsledkům splňují současné standardy. Výsledky práce aspiranta byly zveřejněny v období 2018-2023 v IF časopisech a tuzemském odborném periodiku *Čes. Gynek.* Publikování v domácím periodiku – bezesporu přispívá k dalšímu postgraduálnímu vzdělávání gynekologů a dalších lékařů.

Téma disertační práce spadá do dynamicky se rozvíjející oblasti molekulární diagnostiky. Student prokázal, že se v problematice orientuje. Na výzkumech pracoval většinou multioborový tým s absencí zahraničních pracovišť.

Jsou zde tři otázky či komentáře k diskusi, na které by případně mohl aspirant reagovat v průběhu obhajoby:

1) V případě vytipování zajímavých proteinů resp. potencionálních biomarkerů, bude se uvažovat o jejich kvantifikaci ve vzorku cervikálního hlenu? Pokud ano, jak bude standardizováno případné zahuštění hlenu a v jakých jednotkách by mely být výsledky udávány. Existuje faktor (celkový protein, mukózní komponenta), na který by šlo kvantitativní přepočtení vztáhnout? 2) Složení cervikálního hlenu podléhá zcela jistě významným interindividuálním rozdílům, jeho aplikovatelnost jako klinického vzorku bude limitována i dalšími periodickými změnami, věkem pacientky a správným načasováním odběru. Jak hodnotíte v případě cervikálního hlenu efekty posttranslačních modifikací, především glykosylací, z hlediska jednotlivých proteinových entit, které by mohly být navrženy jako potencionální biomarkery? 3) Vracím se částečně k prvnímu dotazu. Jaká je intraindividuální variabilita u hlavních obsahových komponent cervikálního hlenu? Závěrem, mám několik poznámek ke stylistickému zpracování a použité terminologii, bude diskutováno v průběhu obhajoby.

Závěrem konstatuji, že student jednoznačně **prokázal** tvůrčí schopnosti. Předložená disertační práce **splňuje** všechny požadavky kladené na disertační práci pro studijní program *Gynekologie a porodnictví*. Práci **doporučuji** k obhajobě.

S pozdravem

Jan Vacek

Prof. Ing. Jan Vacek, Ph.D. FRSC
Hněvotínská 3, 775 15 Olomouc
tel.: +420 585 632 303
e-mail: jan.vacek@upol.cz
<http://vacek.upol.cz>