

## **OPONENTSKÝ POSUDEK DISERTAČNÍ PRÁCE**

Autor práce: **MUDr. Lukáš KRBAL**

Školící pracoviště: **Fingerlandův ústav patologie, Univerzita Karlova, Lékařská fakulta v Hradci Králové a Fakultní nemocnice Hradec Králové**

Název práce: **Studium metastatických procesů a odpovědi na léčebnou terapii u primokultur izolovaných z kolorektálního karcinomu a metastáz do lymfatických uzlin**

Předložená disertační práce byla vypracována pod vedením školitele prof. MUDr. Ivo Šteinerja, CSc. a školitele-konzultanta prof. MUDr. Aleše Ryšky, Ph.D.

Autor zvolil ve své disertační práci aktuální onkologickou problematiku. Zaměřuje se na kolorektální karcinom a možnosti jeho hlubšího poznání prostřednictvím buněčných kultur z primárního nádoru i z metastáz v regionální lymfatické uzlině. Obšírně se věnuje optimalizaci postupu pro přípravu primokultur a stanovení jejich citlivosti k vybraným chemoterapeutikům a monoklonálním protilátkám. Další část studie se týká stanovení markerů nádorové transformace a progresu (metastazování) se zvláštním důrazem na malé regulující RNA a na objasnění role patobiologického mechanismu epiteliálně mezenchymální tranzice v metastazování. Vzhledem k úzké návaznosti na klinické požadavky je třeba velmi pozitivně hodnotit volbu tématu disertační práce. Práce vznikla za podpory programů IGA MZ ČR (NT 14150-3/2013) a GAČR (17-10331S).

Předložený spis má celkem 125 stran, z toho 6 stran je výčet použité literatury (čítající celkem 130 odkazů, téměř z poloviny recentních z posledních 5 let) a 7 stran je věnováno seznamu tabulek a obrazové dokumentace s popisy. Součástí práce je 15 přehledných tabulek a 35 instruktivních obrázků zařazených přímo do příslušného textu. Obrázky zahrnují též fotografie, mikrofotografie a grafy.

Práce je rozčleněna celkem do 11 logicky navazujících kapitol, z nichž část je rozdělených na další podkapitoly. Disertační práce je napsána spisovnou češtinou, grafické uspořádání práce je zdařilé.

Textová část práce je vyváženě rozdělena na teoretický úvod a vlastní studii. Teoretický úvod výstižně pojednává o kolorektálním karcinomu od epidemiologie přes klinický obraz a prekursorové léze po diagnostiku a léčbu. Zvláštní oddíl je též věnován lékové rezistenci a experimentálním modelům kolorektálního karcinomu in vitro. Teoretický přehled svědčí o dobré orientaci autora v dané problematice.

Přehledně jsou uvedeny cíle práce formulované do několika okruhů. Práce je zacílena především na:

- optimalizaci postupu pro izolaci buněčných kultur z kolorektálního karcinomu a jeho uzlinových metastáz
- stanovení citlivosti primokultur k běžně používaným chemoterapeutikům (oxaliplatin, irinotekan) a k monoklonálním protilátkám (např. bevacizumab)
- analýzu markerů kancerogeneze a nádorové progresi a na patobiologii epiteliálně mezenchymální tranzice.

Kapitoly „Metodika“ a „Výsledky“ jsou přehledně uspořádány a podávají výstižně informaci o použitých postupech a dosažených výsledcích. V provedené studii bylo použito velké množství laboratorních metod, což vyžadovalo zapojení mnoha specializovaných laboratoří od histologické a imunohistochemické přes genetickou až po laboratoř buněčných kultur, a tudíž nepochybně spolupráci většího počtu odborníků. Všechna pozorování jsou detailně a srozumitelně popsána, fotograficky dokumentována a dosažené výsledky jsou přehledně uvedeny v tabulkách. Kapitola „Diskuze“ podrobně rozebírá dosažené vlastní výsledky, analyzuje je a porovnává s publikovanými údaji jiných autorů.

Kapitola „Závěry“ shrnuje všechny dosažené výsledky a nastiňuje jejich možnou implementaci do klinické praxe. Oddíl „Závěry“ bych vytkla pouze některá zbytečně opakovaná fakta uvedená již metodice a diskuzi.

Dosažené výsledky jsou zajímavé, přínosné a o jejich kvalitě svědčí i jejich publikování v impaktovaných, resp. recenzovaných časopisech. Předložená studie zároveň může představovat důležitou platformu pro další zaměření výzkumu disertanta.

### **Připomínky a dotazy**

K obsahové ani formální stránce disertační práce nemám zásadní připomínky či výhrady. Zcela ojedinělé překlepy, občasné chybné interpunkční znaménka a nejednotnost při používání označení microRNA, miRNA a miR v textu či zbytečná květnatost některých vět ve spisu jsou marginální záležitosti, která nijak nesnižuje vědecký přínos předložené disertační práce.

Autorovi bych ráda položila následující dotazy:

1. Proč jste k testování viability buněk použili WST-1 test místo běžně používaného MTT testu? Je WST-1 test výhodnější pro daný typ experimentu?
2. Jaký je váš názor (i s ohledem na vámi provedené experimenty) na vhodnost použití immortalizovaných buněčných linií pro studium nádorové problematiky?
3. Jaký byl vztah mezi statusem genu TP53 a vnímavostí na chemoterapeutika ve vámi testovaných liniích?

### **Závěr**

MUDr. Lukáš Krbal předložil kvalitní disertační práci, která významně propojuje experimentální medicínu s potřebami klinické praxe. Jsem přesvědčena, že autorem

vytýčené cíle byly splněny. Dosažené výsledky rozšiřují spektrum poznatků týkajících patobiologie kolorektálního karcinomu a možností jeho dalšího studia. Autor předkládané disertační práce prokázal své schopnosti samostatně tvořivě vědecky pracovat a prezentovat výsledky formou přednášek i publikací.

**MUDr. Lukáš KRBAL splnil všechny požadavky kladené na doktorskou disertační práci stanovené podle §47 Zákona o vysokých školách č. 111/98 Sb. Doporučuji, aby mu byl po úspěšné obhajobě disertační práce udělen titul doktor - „Ph.D.“ za jménem.**

Doc. MUDr. Marie LUDVÍKOVÁ, Ph.D.

Ústav biologie  
Lékařská fakulta v Plzni  
alej Svobody 76  
301 00 Plzeň  
e-mail: [marie.ludvikova@lfp.cuni.cz](mailto:marie.ludvikova@lfp.cuni.cz);  
[ludvikova.m@email.cz](mailto:ludvikova.m@email.cz)

V Plzni, 22. července 2019.