



UNIVERZITA KARLOVA – 1. LÉKAŘSKÁ FAKULTA

a

VŠEOBECNÁ FAKULTNÍ NEMOCNICE
ÚSTAV KLINICKÉ BIOCHEMIE
A LABORATORNÍ DIAGNOSTIKY

U Nemocnice 2, 128 08 Praha 2

Telefon: 22496 2841, Fax: 22496 2848

e-mail: bioch@lf1.cuni.cz



Oponentský posudek disertační práce Mgr. Jarmily Stremeňové

**Dipeptidyl peptidase-IV Activity and/or Structure Homologues: Their
role in gliomagenesis**

Disertační práce byly vypracována v Ústavu biochemie a experimentální onkologie 1. lékařské fakulty UK v Praze. Je předkládána v angličtině, velmi přehledně uspořádaná a doplněna kopiemi prací, které vznikly při řešení disertace. Publikované bylo celkem 5 prací: v zahraničních časopisech 3 (na jedné z nich je Mgr Stremeňová první autorka), jeden abstrakt na významném světovém onkologickém kongresu v Řecku a jedna práce v českém časopise.

V krátkém **závěru (Summary) na str. 4** vysvětluje autorka důvody a přístup, který zvolila ke studiu tzv. DASH molekul. Z maligních nádorů si zvolila astrocytomy u kterých chtěla zjistit úlohu DASH molekul v gliomagenesi. Zjistila zvýšení enzymatické aktivity DPP-IV-podle tzv gradu klasifikovaného podle WHO stupnice. Na molekulární úrovni byla sledována úroveň exprese transkriptů DPP-IV, RT-PCR, RQ-RT-PCR a dále při hodnocení exprese proteinů byly používány imunohistochemické techniky barvení histologických řezů.

Kapitola **Úvod (str. 9 – 23)** je velmi instruktivní a přehledná, je doplněná obrázky a tabulkami a jsou v ní definovány jednotlivé sledované veličiny i mozkové nádory současně s recentními informacemi o jejich vzájemných vztazích.

Cíle práce (str.24) jsou vytyčeny stručně a přehledně v samostatné kapitole. V podstatě jsou definovány dva hlavní cíle: 1. Určení možné asociace DASH molekul a receptorů v mozkové tkáni

2. Analýza případné funkce DASH molekul v růstové aktivitě transformovaných buněk

K experimentům byly používány bioptické vzorky mozkové tkáně nenádorové i nádorové stejně jako i primární kultury derivované z lidských astrocytických nádorů a meningeomů. Byla sledována expresní a enzymatická aktivita DASH molekul, exprese NK1 a CX4, receptory stromálních buněk (substance P, faktor 1 alfa).

V kapitole **Materiál a metody** (str. 25 – 30) jsou definovány základní klinické údaje pacientů s mozkovými nádory, kteří byli vyšetřeni a zařazeni do studie. Jako kontrola byla použita tkáň mozku nemocných s epilepsií. Nejvíce vzorků bylo možné získat od pacientů s glioblastomem grade IV, což je dáno frekvencí výskytu různých typů mozkových nádorů. Soubor jako celek je úctyhodného rozsahu, zvláště s ohledem na množství sledovaných ukazatelů nejrůznějšími a hlavně nejmodernějšími metodami.

Stručně jsou popsány všechny použité metody molekulární, biochemické, tkáňových kultur, imunologické i histochemické, všechny jsou na vysoké metodické úrovni.

Kapitola **Výsledky** (str. 31 – 41) je opět členěna podle jednotlivých testovaných ukazatelů a jsou provedeny velmi pečlivé statistické výpočty. Výsledky jsou prezentovány v grafech, jsou přehledné; komentované autorkou a číselně doložené. Kvantifikace a charakteristika distribuce proteinů DASH molekul a receptorů byla sledována imunohistochemicky a tento průkaz poskytl důkaz vysoké variability. Podobně byla zjišťována exprese DASH, NK1 a CXCR4 a růstové vlastnosti tkáňových nádorových primokultur a je podrobně zhodnocena v barevných grafech na str.40.

Získané výsledky jsou diskutovány v kapitole **Diskuse** (str.42-46) a rovněž v příložených separátkách. Autorka prokázala svou vědeckou erudici a schopnosti pracovat v základním i aplikovaném výzkumu a přistoupit i k řešení velmi nesnadných a technicky náročných témat. Je si po celou dobu vědoma, že jde o komplexní problém a že její výsledky, jsou jen částečnou odpovědí na položené otázky. V **Závěrech** (str. 46) jsou pak shrnuty do 7 bodů a na str.47 jsou nastíněny **Perspektivy** další práce. Vzhledem k vysoké variabilitě expresních profilů DASH v mozkové tkáni jednotlivých pacientů s glioblastomy a na základě dalších získaných výsledků by po rozšíření experimentální skupiny a po vyhodnocení průběhu změn a poměru mezi CXCR4 a DPP-IV bylo možné rozdělit nemocné do různých

prognostických skupin. Tuto hypotézu jistě bude nutné ověřit a prokázat korelace mezi zjišťovanými ukazateli, což je přesně to, na co se autorka se spolupracovníky\ zřejmě chystá.

Téma disertační práce bylo velmi vhodně a aktuálně zvoleno, zpracováno odpovídajícími metodami a práce přinesla nové poznatky a to pro základní i aplikovaný výzkum. Molekulární genetické metody, které byly použity, jsou na vysoké metodické úrovni, je jimi zpracován poměrně rozsáhlý soubor nádorových i nenádorových tkání. Autorka dále vyšetřila tyto tkáně i imunohistochemickými metodami, založila řadu primokultur u kterých rovněž sledovala proliferaci nádorových buněk, expresi vybraných genů a řadu dalších ukazatelů. Celkový přehled použitých metod je skutečně obdivuhodný a svědčí o pečlivosti a cílevědomosti autorky i jejího školitele. **Závěry**, vyvozené autorkou jsou jasné a jsou základem hypotézy pro další výzkum. Celkem jednoznačně je podpořena myšlenka individualizace léčby pacienta podle molekulárních profilů. Předkládaná disertační práce je velmi názornou ukázkou základního výzkumu, který se však orientuje na budoucí přínos pro léčbu.

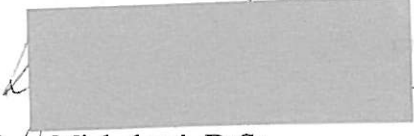
Práce je doplněna 118 citacemi z literatury staršího, ale především nejnovějšího data a připojeny jsou i kopie separátů publikovaných prací. Celá práce je členěna v desetinném systému, je napsána anglicky, pečlivě, prakticky bez překlepů. Grafy jsou názorné a dobře ilustrují získané ukazatele případně dynamiku proliferace nebo změn. Zkratky jsou vysvětleny v příloženém seznamu.

Mám jen dva dotazy:

1. Říkáte, že individuální primární buněčné kultury měly různou morfolonii. Nedají se tyto rozdíly vysvětlit rozdílnými subtypy nádorů podle nálezů patologa? Podobně jako imunocytochemické nálezy?
2. Vzhledem k poměrně vysoké variabilitě exprese sledovaných ukazatelů je nutné ještě dále rozšířit sledovaný soubor. Budou to především glioblastomy grade IV, které jsou nejčastější nebo se chystáte na některé jiné typy astrocytárních nádorů abyste mohli potvrdit své výsledky a pracovní hypotézy?

Disertační práce Mgr. Streměňové splnila bez výhrad všechny požadavky, které jsou na disertační práci kladené a autorka prokázala schopnost samostatně a tvořivě vědecky pracovat.

Vzhledem k výše uvedeným skutečnostem doporučuji postoupení práce k obhajobě před komisí a na základě úspěšné obhajoby doporučuji udělení akademického titulu PhD za jménem podle paragrafu 47 Zákona o vysokých školách č. 111/98 Sb.



Prof. ing. Kytá Michalová, DrSc

Centrum nádorové cytogenetiky VFN a 1.LF UK

Ústav klinické biochemie a laboratorní diagnostiky

U nemocnice 2, 12808 Praha 2

V Praze dne 3.6.2009