

**SPOLEČNÁ LABORATOŘ BIOLOGIE NÁDOROVÉ BUŇKY 1. LÉKAŘSKÉ FAKULTY UNIVERSITY
KARLOVY V PRAZE A FYZIOLOGICKÉHO ÚSTAVU AV ČR**

Prof. MUDr. Aleksi Šedo, DrSc., Ústav biochemie a experimentální onkologie, 1. LF UK
U Nemocnice 5, 128 53, Praha 2

**Tel/Fax.: +420-2-2496 5826, Mobile: +420-728 748 692, E-mail: Aleksi@cesnet.cz,
www.lf1.cuni.cz/lbnb**



**Oponentský posudek doktorské disertační práce MUDr. Ilony Rousalové "Expression and
function of serpinB9 in lung cancer cells"**

Předložená práce prezentuje v rozsahu cca 100 stran včetně velmi solidního seznamu referencí obecný úvod do problematiky, vlastní práci autorky a její interpretační závěry. Z formálního pohledu je cenné připojení autorčiných prací *in-extenso* (dvě originální a jedna přehledná), publikovaných ve slušných mezinárodních časopisech, v nichž je možno dohledat další relevantní informace. Za zmínku stojí i extendovaná výsledková část, zahrnující i dosud nepublikované výsledky, indikující další směřování práce laboratoře.

V **úvodní** části autorka kvalifikovaně a velmi přehledně (a rovněž velmi dobrou angličtinou) popisuje molekulární a funkční vlastnosti granzymu B a jeho inhibitoru serpinu B9, včetně jejich patogeneticky významných (de)regulací. Pro vlastní práci je zásadně významný a kvalitně zpracovaný přehled problematiky "osy granzym B - serpinB9" v regulaci apoptosy a význam obou molekul v kancerogenetických procesech.

Metodická část disertace je dobře připravena a těží zejména z odkazů na příložené vlastní práce kandidátky. Metodická šíře a profesionální zvládnutí metod je samozřejmě podmínkou získání věrohodných a validních výsledků a mimo jiné i vizitkou renomované laboratoře školitele adeptky. V disertaci nechybí ani jasná informace o tom, jak a na kterých metodách se autorka sama věcně podílela.

Výsledková část je prezentována velmi přesvědčivě, s řadou dobře zpracovaných grafů a tabulek. Jedná se o úctyhodné množství práce, které opět dokumentuje kvalitní standard jak aplikantky, tak jejího školícího pracoviště. Oceňuji i vlastní profesionálně objektivní pohled na skupinu výsledků, které mohou být ovlivněny krosreaktivitou použité protilátky; vědomí a přiznání takovýchto dilemat zvyšuje důvěryhodnost autora i jím předložených výsledků. Cenný je rovněž autorčin kritický pohled

na možnosti interpretace výsledků získaných prací s buněčnými liniemi, představujícími exkluzivně transformované elementy, které ovšem na vrub selekčnímu tlaku při ustavování linie mohou nabýt "arteficiálních" vlastností a výsledků experimentů s bioptickým materiálem, představujícím širší kontext, s možností "anonymizace" konkrétních buněčných zdrojů studovaných molekul. I z tohoto hlediska autorka dobře interpretuje svá pozorování - originální výsledky které jsou součástí publikované přehledné práce - z hlediska pravděpodobného buněčného zdroje GrB v karcinomu plic. Osobně se domnívám, že jednou z možností zvýšení validity interpretace těchto výsledků by mimo jiné mohly být experimenty s primokulturami ze zpracovávaného bioptického materiálu. Zároveň si jsem ovšem vědom množství limitů tohoto modelu. S interpretačními problémy a hledáním vhodných modelů se samozřejmě vyrovnáváme ve své práci trvale a proto je velmi užitečná kombinace přístupů, které MUDr. Roušalová zvolila.

Drobnou výhradu mám ke skutečnosti, že 4. cíl zmíněný v hypotese (epigenetika APIP a UACA) nemá jasnou oporu v úvodní "state-of-the-art" kapitole. Je sice evidentní, že tyto studie spadají do oblasti regulací apoptozy, nicméně jejich smysl by s náležitým úvodním aparátem více vynikl. Ve stávající podobě působí poněkud "naroubovaně". V tomto bodu vnímám jako drobnou nedokonalost (která ovšem vyplývá spíše z podstaty věci, než z chyby adeptky) - nemožnost jednoznačné interpretace získaných "demetylačních" studií, na jejichž základě nelze uzavřít, zda epigenetická regulace se týká přímo molekul zájmu, nebo zda jejich regulace je nepřímým (a možná funkčně irelevantním) důsledkem změny methylačního stavu jiných genů a tudíž jiných funkčních systémů.

Kapitola **diskuse** opět prokazuje dobrou orientaci autorky v tématu a její snahu po objektivní interpretaci vlastních pozorování v kontextu stávajících znalostí. Jako drobnou výhradu bych uvedl pouze, dle mého soudu, obtížnou predikci, zda demethylující látky mohou desensitizovat tumor proti GrB indukované apoptose. Samo pozorování indukce SB9 in vitro obecnou demethylací není dostatečným substrátem k posouzení "výsledného vektoru" důsledku demethylace v komplexním nádorovém prostředí. Určitým argumentem by mohlo být FUNKČNÍ studium důsledku demethylace in vitro, pouze změna exprese samotného SB9 dostatečným argumentem není. Domnívám se, že problematika epigenetiky v patogeneze plicních nádorů a zejména klinického významu "demetylačních intervencí" (jak iatrogenních, tak třeba vlivem kouření tabáku) měla být rovněž zmíněna v rámci úvodu práce a následně využita jako interpretační instrument.

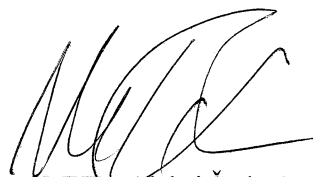
Při pohledu na **závěry** zcela souhlasím s prvním z nich a s potěšením zdůrazňuji jak jeho zargumentovanost, tak originalitu. Druhý závěr z hlediska pozorovaného fenomenu je rovněž evidentní, ovšem předběžný, bez možnosti přesněji specifikovat jeho "přímost či nepřímost". To není v žádném případě na závadu, je to prvním krokem k poznání. V interpretaci vztahu demethylace k biologickému či dokonce klinickému důsledku bych však byl velmi konzervativní s považoval jej více

za hypotesu než závěr. Třetí závěr považuji za podstatně podloženější a zasluhující další experimentální ověření. Čtvrtý závěr z mého pohledu představuje spíše "výsledek navíc", bez úplné souvislosti s prezentovaným úvodem.

Ve svém souhrnu ovšem celá práce přináší cenné a originální výsledky, kvalitní a věrohodné poznání a představuje nezpochybnitelný přínos pro obor.

**Na základě závažnost tématu, splnění cílů práce a jejího publikačně doloženého přínosu
DOPORUČUJI s potěšením práci přijmout jako podklad pro udělení hodnosti PhD.**

V Praze, 25. července 2012



Prof. MUDr. Aleksi Šedo, DrSc

