

Oponentský posudek k disertační práci

MUDr. Ilona Roušalová:

"Expression and function of serpin B9 in lung cancer cells"

Mezi klíčové patogenetické faktory kancerogeneze patří schopnost většiny nádorových buněk vyvázat se z apoptosy, formy programované buněčné smrti, která účinkuje jako přirozená bariéra maligního procesu. Mechanismus apoptosy je založen na existenci regulačních a efektorových složek, přičemž regulační podněty přicházejí jak z extracelulární oblasti, tak zevnitř buňky. Apoptosa může být vyvolána různými stresovými situacemi, kterými maligně transformované buňky procházejí, ale může být vyvolána i uměle, účinky protinádorové terapie. Z toho důvodu jakákoli dysfunkce apoptotického systému nejen nepříznivě ovlivňuje průběh nádorové choroby, ale i odpověď na medikamentosní, radiační a biologickou terapii.

Z uvedeného je zřejmé, že studium složek apoptotických kaskád a jejich regulace se řadí mezi hlavní proudy onkologického výzkumu. V laboratořích molekulární a buněčné biologie Kliniky pneumologie a hrudní chirurgie 3.LF UK a Nemocnice Na Bulovce jsou studovány poruchy apoptotických mechanismů u nemalobuněčného karcinomu plic (NSCLC) pod vedením MUDr. Evžena Křepely, CSc., již řadu let. Na tomto výzkumu se podílela v poslední době i MUDr. Ilona Roušalová. Ve své disertační práci se zaměřila především na expresi a funkci serpinu B9, který je pokládán za přirozený inhibitor proapoptické proteázy granzymu B. Granzym B (GB) je klíčovou sekreční proteázou cytotoxických lymfocytů a přirozených zabíječů, NK buněk. Jedná se tudíž o důležitou složku zevního apoptotického programu. Uchazečka se rovněž podílela v rámci ústavní spolupráce na studiu regulačních mechanismů apoptosomového aparátu, zejména vlivu methylace DNA na expresi Apaf-1 interacting proteinu a nuclingu (UACA), jejichž produkce je u tumorů utlumena v porovnání se zdravou tkání.

Ve své experimentální práci používala uchazečka aktuální molekulárně biologické postupy, jako jsou moderní metody izolace a kvantifikace RNA, real-time RT-PCR,

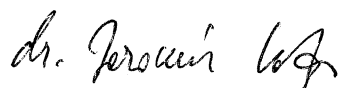
westernblotové analýzy, cytologické a imunocytochemické techniky. Hlavní výsledky byly shrnuty ve 3 impaktovaných publikacích, z nichž souborný článek o apoptose indukované granzymem B rovněž obsahuje originální experimentální data. Mimo to je uchazečka první autorkou 3 sjezdových sdělení a spoluautorkou dalšího, které byly rovněž zveřejněny formou abstrakt, většinou jako suplementa renomovaných časopisů.

V souvislosti se studiem výskytu proteinu PI-9 v nádorových buňkách bych si dovilil zdůraznit význam demonstrace SDS-resistantního komplexu mezi PI-9 a granzymem B. Nález komplexu je obecně pokládán za absolutní důkaz inhibice proteázy daným serpinem. Zatímco komplex vizualizovaný pomocí anti-GrB má očekávanou lokalizaci (viz obr. 4 str 37), blot s anti-PI-9 je v tomto ohledu nejasný. Zde by vysvětlení podané autorkou bylo možno doplnit o další alternativy, ovšem ideální by byla paralelní kontrola s purifikovaným PI-9.

Jen jako formální doplnění bych upozornil na některé chybičky, např. (1) Autoreferát Summary: "is....a platform activates"; doplně "which", (2) Autoreferát Souhrn: "s méně nediferencovaným adenokarcinomem", (3) str.26: "has been showed". Nemohu si však odpustit komentář k nadužívání zkratk v textu autoreferátu, který by měl sloužit jako základní informační zdroj i osobám, méně zvěhlým v užívání tohoto pozoruhodného arzenálu. Zde bych alespoň doporučil respektovat v časopisech běžně vyžadovaný plný název při prvním uvedení.

Obecně je možno konstatovat, že uchazečka jednak prokázala vysokou metodickou erudici v řešení aktuálních problémů biomedicínského výzkumu, jednak byla schopna analyzovat, zformulovat a adekvátně interpretovat dosažené experimentální výsledky. Tento fakt je dokumentován 3 publikacemi v kvalitním periodiku. Z toho důvodu **DOPORUČUJI** přijmout disertační práci jako podklad k udělení titulu PhD.

V Plzni dne 4.9.2012



Doc. MUDr. Jaromír Kotyza, CSc.