

Oponentský posudek na disertační práci Mgr. Vladimíry Horové “Mechanismus, regulace a využití TRAILem indukované apoptózy nádorových buněk” v rámci postgraduálního studia na Přírodovědecké fakultě UK

Disertační práce Mgr. Vladimíry Horové se zabývá molekulárními mechanismy, které vedou k apoptóze rakovinných buněk po aplikaci ligandu TRAIL. Práce se zabývá TRAILem indukovanou signalizací, její regulací a drahami, které ji modifikují, včetně úlohy endocytózy, lysozómů a vnitrobuněčného transportu. Autorka také v jedné z prací pomocí kvasinkového dvouhybridního systému indentifikovala protein ARAP1, který reguluje transport TRAILu na cytoplazmatickou membránu. Téma je to jistě zajímavé i vzhledem ke skutečnosti, že v klinických testech se zdá, že nádory jsou schopny vyvinout rezistenci k léčbě TRAILem.

Formální kvalita předložené práce

Práce je po formální stránce dobře zpracována, je zde pár nepřesností, které budou dále zmíněny.

Jazyk

Práce je psána v českém jazyce, nicméně překlepů a chyb je minimum. Autoreferát je v jazyce anglickém a zde bych měl pár připomínek, zvláště k angličtině, tyto budou uvedeny později.

Hodnocení jednotlivých částí disertační práce

1) Literární úvod

Literární úvod je shrnuje současné poznatky o úloze a regulaci TRAILu a jemu příbuzných receptorů, které jsou mnohdy protichůdné a závislé na buněčném typu. Úvod považuji za vcelku zdařilý a v rozumném rozsahu.

2) Cíle práce

Cíle práce jsou jasně shrnuty do tří navazujících bodů, které si kladou za cíl charakterizovat úlohu endocytózy, lysozómů a vakuolární ATPázy v regulaci buněčné smrti vyvolané TRAILem a dále také analyzovat složení a roli apoptotických receptorů TRAIL-R1/DR4 a TRAIL-R2/DR5.

3) Výsledky

Práce je souborem tří publikovaných prací, které prošly recenzním řízením a nepovažuji tedy za relevantní hodnotit jejich kvalitu, neboť data v nich obsažená byla již hodnocena v průběhu recenzního řízení.

4) Diskuse

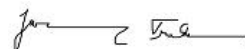
V diskusi autorka předkládá svou představu o úloze TRAILem indukované buněčné smrti, kde zdůrazňuje zatím nepopsanou avšak důležitou roli V-ATPázy pro přenos TRAILem indukovaných pro-apoptotických signálů. Zde se nabízí otázka, zda je možné získané poznatky případně přenést do klinické praxe neboť vliv inhibitorů vakuolární ATPázy je patrný v krátkých časech inkubace, ale v delších časech buňky po aplikaci TRAILu umírají stejně. Jak si tedy autorka případně představuje využití získaných poznatků v klinické praxi? Dá se např. předpokládat, že by mohla být klinicky úspěšně používána kombinace TRAILu a inhibitorů 17-AAG nebo PLX4720? Plánuje autorka v tomto smyslu nějaké *in vivo* pokusy?

Další připomínky a otázky:

- 1) Mám výhrady k seznamu zkratk, kde jsou většinou uvedeny oba ekvivalenty zkratk, jak česky tak anglicky, nicméně například zkratky IFN, IL, LPS, LT, OPG (strana 8 a 9) jsou uvedeny pouze v češtině. V případech, kdy je slovo přejato z angličtiny a tudíž se píše totožně, to lze pochopit, nicméně LPS či LT tímto případem nejsou. Také není důsledně dodržována zásada, že při prvním použití by měla být zkratka vysvětlena. Občas bych změnil formulace, jako např. „Protein je exprimován na povrchu buněk“ nebo „byli identifikováni další členové“, což sice není mluvnicky špatně, ale zní to poněkud nezvykle.
- 2) Autorka občas používá anglikanismy, jako například na straně 14, druhý odstavec „supresivní efekt“ nebo „decoy receptor“ (strana 23), který je v seznamu zkratk přeložen jako tlumivý receptor, případně „death doména“ tamtéž (v seznamu zkratk definována jako doména smrti). Dalším anglikanismem je také „vezikl“ (strana 46, druhý odstavec) . Ve vlastní práci jsou také některé výrazy typu palmitylace (strana 28, první odstavec), což by měla být palmitoylace
- 3) Autoreferát je psán v anglickém jazyce, kde je ovšem občas nesprávný slovosled a objevují se zde i věty , které nemají podmět, což angličtina nezná. Je to například případ textu na straně 6 autoreferátu, kdy bod 1. je např. „1. is reduced acidification of Lysosensor recognized intracellular vesicles and also number of vesicles labelled by LAMP3 antibody“. Stejně je pak postupováno v bodu 2. Na straně 6 a také v bodě 2. Na straně 7. V některých pasážích je pak znát, že jde o doslovný překlad českého textu do angličtiny. Měl bych ještě další menší výhrady k angličtině, jako slova typu acidificated (strana 5, konec druhého odstavce), místo acidified nebo volné zaměňování three a tree (strana 13, 15), či signalization pathways namísto signalling pathways (strana 9, první odstavec). Některá slovesa se také pojí s jinými předložkami jako participate in oproti použitému participate on (strana 9, třetí odstavec), dále pak aim at namísto použitého aim on (strana 14, poslední odstavec). Formulace „carcinoma cells represent very heterogenous cell structure“ na straně 12 je nesprávná.
- 4) Jak je to se specificitou inhibice ATPázy pomocí Bafilomycinu A a concanamycinu? Jde opravdu o zcela specifickou inhibici V-ATPázy? Setkal jsem se použitím BafilomycinuA jako inhibitoru autofágie a zde autoři používali krátké inkubační časy kvůli možným nespécifickým působením v delších časech.
- 5) Autorka popisuje vliv inhibice vakuolární ATPázy na TRAILem vyvolanou apoptózu a konstatuje, že jde pozorovaný efekt je průkazný v krátkých časech, ale v delších časech je indukce apoptózy TRAILem srovnatelná. Neznamená to, že pozorovaný efekt je spíše krátkodobý a modulace funkce V-ATPázy nebude pro vývin rezistence k TRAILu zásadní?
- 6) V literárním úvodu je zmíněna souvislost s Alzheimerovou chorobou, astmatem a dalšími typy nemocí avšak příslušná citace chybí (strana 21, konec prvního odstavce).

Celkové hodnocení disertační práce

Práci hodnotím jako zdařilou a doporučuji ji k obhajobě, autorka prokázala, že se orientuje ve vědecké literatuře, je schopna o dané problematice přemýšlet, provést vlastní experimenty a také poté data publikovat v mezinárodních impaktovaných časopisech a sepsat do podoby disertační práce. Přeji autorce úspěšnou obhajobu a mnoho dalších vědeckých úspěchů.



V Praze dne 5.9.2013

Mgr. Jaroslav Truksa Ph.D.