

Oponentský posudek k disertační práci

Ing. Erika Moravčíková

"Expression of apoptosome pathway regulators and activation of apoptosome apparatus in non-small cell lung carcinoma"

Apoptosa je jedním ze základních homeostatických nástrojů mnohobuněčných organismů, který se uplatňuje i jako přirozená bariera maligního procesu. Schopnost nádorových buněk vyvázat se z apoptosy je proto považována za jeden z klíčových patogenetických faktorů kancerogeneze. Je prokázáno, že dysfunkce apoptotického systému nejen nepříznivě ovlivňuje průběh nádorové choroby, ale i odpověď na medikamentosní, radiační a biologickou terapii. Studium složek apoptotických kaskád a jejich regulace proto náleží mezi hlavní směry onkologického výzkumu. Přes soustředěné badatelské úsilí však zůstává stále mnoho nejasností, podobně jako při studiu jiných multifaktoriálních regulačních kaskád. Tento stav přirozeně komplikuje i snahy apoptosu léčebně ovlivňovat.

V České republice jsou studovány poruchy apoptotických mechanismů u nemalobuněčného karcinomu plic (NSCLC) především v laboratořích molekulární a buněčné biologie Kliniky pneumologie a hrudní chirurgie³.LF UK a Nemocnice Na Bulovce pod vedením MUDr. Evžena Křepely, CSc.. Na tomto výzkumu se podílela v posledních letech i Ing. Erika Moravčíková. Zaměřila se zejména na expresi regulátorů apoptosomové regulační dráhy a na aktivaci apoptosomového aparátu, jinými slovy především na složky vnitřního apoptotického programu. Význam vnitřní cesty spočívá v tom, že zprostředkovává účinky chemoterapie a biologické terapie NSCLC, a současně posiluje i zevní mechanismy vyvolání apoptosy.

Experimentální výsledky získávala uchazečka pomocí moderních metod izolace a kvantifikace RNA, real-time RT-PCR, westernblotové analýzy bílkovinných produktů, inhibice metylace DNA, včetně technik cytologických, imunocytochemických a metod kolonových frakcionací.

Závěry studií obsažených v předložené dizertaci potvrzují určitý rozpor mezi připraveností studovaných buněk k apoptose na jedné straně a nedostatečnou funkcionalitou apoptosomového aparátu u převážného podílu nádorových tkání na straně druhé, což může být rozhodujícím faktorem pro rozvoj nádorové choroby. Závěry jsou doloženy údaji o expresi klíčových regulátorů apoptosomové dráhy jednak u tkáňových nádorových linií, jednak u cytosolových vzorků nádorové tkáně v porovnání s nezasaženou plicní tkání. V diskusi jsou pak porovnány možné výklady regulačních poruch.

Publikačními výstupy zahrnují dva články zveřejněné v renomovaném impaktovaném periodiku, další práce byla odeslána do redakce dalšího významného časopisu. Autorka již dříve prokázala svou odbornou erudici spoluautorstvím článku v časopisu s IF=4,9. Publikační aktivitu rovněž dokládá 8 zveřejněných abstrakt z odborných konferencí.

Ačkoli je práce v zásadě zaměřena na studium apoptotických mechanismů u nemalobuněčných karcinomů plic, byly analyzovány i buněčné linie malobuněčného karcinomu. Byly podle autorky zjištěny významnější rozdíly v regulaci apoptosy u NSCLC a SCLC? Pokud ne, proč je tak důsledně dbáno o segregaci obou tříd nádorů i v oblasti studia apoptosy?

Co se týče metodického přístupu, je v obecné rovině vytýkáno modelu tkáňových kultur vytržení z regulačního kontextu, u cytosolových extraktů je obtížně hodnotitelným faktorem přítomnost produktů buněk nádorového stromatu. Recenzenta by zajímal názor autorky na možnosti ověření/porovnání dat získaných analýzou nádorových cytosolů s analýzou nádorových buněk získaných mikrodisekční technikou. V poslední době je vyvíjen tlak na autory užívající tkáňové kultury směrem k autentizaci buněčných linií jako požadavku správné laboratorní praxe (Nat Rev Cancer 2010, „Cell line misidentification: the beginning of the end“). Uvažují autoři o případné kontrole STR profilů svých kultur?

Aniž by recenzent zamýšlel zpochybňovat odbornou úroveň dizertace, cítí nutnost se vyslovit k formální stránce textu. Je téhož názoru jako většina reviewerů podávaných publikací, že text by měl být nejen věcně správný, koncizní, ale také pokud možno čtivý. Čtivosti např. nepřispívá záplava zkratk (v dizertaci např. předsunutý 60 členný seznam zdaleka neobsahuje všechny užití zkratky), jev, kterému se ovšem v této fázi poznání v říši apoptosy zřejmě nelze vyhnout. Předložení dizertace v jazyce anglickém lze hodnotit kladně,

neboť angličtina na rozdíl od jazyků slovanských nenabízí tolik možností k zamlžování smyslu vyjadřovaného. To platí ovšem za předpokladu, že tento jazyk dostatečně využívá svých nástrojů pro vymezení vztahů mezi jevy (viz poslední větu abstraktu).

Na závěr je možno konstatovat, že uchazečka nejen prokázala vysokou metodickou erudici v řešení jednoho z aktuálních problémů současné medicíny, ale byla také schopna dosažené experimentální výsledky správně zformulovat a adekvátně interpretovat. Tento fakt je dokumentován autorstvím/spoluautorstvím u 3 publikací v kvalitních periodících. Z toho důvodu DOPORUČUJI přijmout disertační práci jako podklad k udělení titulu PhD.

V Plzni dne 15.4.2013

Doc. MUDr. Jaromír Kotyza, CSc.

