

Posudek na doktorskou dizertační práci Mgr. Jitky Stančíkové s názvem „Molecular mechanisms of physiological renewal and cancer transformation of mammalian gastrointestinal tissues“

Předkládaná práce Mgr. Jitky Stančíkové se zabývá různými aspekty fyziologie a patologie gastrointestinálního traktu s důrazem na přirozenou obnovu a nádorové bujení závislé na signální dráze proteinu Wnt. Téma práce je vysoce aktuální, neboť nádory trávicího traktu celosvětově patří k nejčastějším typům rakovinného bujení.

Práce je velmi rozsáhlá, obsahuje úctyhodných pět přijatých publikací a šestou ve formě manuskriptu. Dvě publikace popisují funkci cílových genů Wnt signální dráhy – Troy a Nkd1. Troy byl ustanoven jako marker kmenových buněk střeva. V případě Nkd1, který byl již dříve popsán jako cílový gen Wnt dráhy, byla charakterizována jeho exprese ve střevních a jaterních buňkách a popsána jeho exprese ve střevních a jaterních nádorech. Nový marker kmenových buněk byl identifikován také v žaludku, exprese genu *Mist1* v kmenových buňkách isthmální části žaludečního těla je popsána v další publikaci. Následující práce se věnovala hledání cílových genů nádorového supresoru Hic1, kde jako nejzajímavější byl vybrán gen kódující toll-like receptor 2 (Tlr2). Zvýšená exprese Tlr2 vede k aktivaci NF-kappaB dráhy a ke zvýšené proliferaci u nádorových buněk. Poslední publikovaná práce popisuje negativní působení antibiotika monensinu na růst nádorů skrze inhibici Wnt signální dráhy. Samostatnou kapitolu pak tvoří manuskript popisující diferenciální genovou expresi ve střevech bezmikrobních, konvenčně chovaných a monoasociovaných myší. Všechny práce kromě poslední již byly opublikovány ve vysoce impaktovaných časopisech, prošly tedy náročným recenzním řízením a nemám nejmenších pochyb o jejich kvalitě. U dvou prací (publikaci o Nkd1 a nepublikovaného manuskriptu) je Jitka Stančíková sdílenou první autorkou. U všech prací je pak důsledně deklarováno, jaký byl její podíl na řešení.

Práce je uspořádána jako komentovaný soubor publikací, přijatých nebo ve formě manuskriptu, který je opatřen rozsáhlým literárním úvodem (42 stran) a stručným shrnutím výsledků. Největší problém celé práce spatřuji v jejím dost širokém tématickém záběru. I přes nespornou kvalitu publikačních výstupů to nepovažuji za úplně šťastné pojetí dizertační práce. Souvisí s tím i moje následující výtky. Literární úvod je tak obsáhlý hlavně proto, že se autorka snažila pokrýt všechna témata, ocenila jsem například část o struktuře a buněčných typech jednotlivých částí GI traktu. Na druhou stranu je pak nutně řada témat zmíněna jen stručně, o Wnt signalizaci ve střevě by se jistě dalo napsat víc než jedna stránka. Co mi ale chybí nejvíc je obecnější diskuze prezentovaných výsledků, jednotlivé publikace jsou jen doplněny stručným komentářem. Chápu, že právě kvůli širokému záběru je taková diskuze obtížná, ale zcela na ni resignovat nepovažuji za vhodné. Minimálně by bylo možné například nastínit současné otázky a směry výzkumu v oblasti kmenových buněk GIT a podobně.

Otázky k diskuzi:

- 1) Výsledkem hledání nových inhibitorů Wnt dráhy byly čtyři kandidátní molekuly, z nichž byl pro další testování vybrán monensin. Jaký je osud dalších tří inhibitorů? Je plánováno jejich další testování?
- 2) Jaký by mohl být mechanismus účinku monensinu v případě Wnt dráhy? Nakolik je tento inhibitor specifický právě pro Wnt signalizaci?

- 3) V případě Troy a Nkd1 jsou dokumentovány částečně odlišné výsledky pro myši a lidský gen, zvláště co se týče hladiny exprese v nádorech. Některá možná vysvětlení jsou v publikacích navržena, nicméně existuje nějaký obecněji známý rozdíl mezi mechanismem Wnt signalizace u myši a člověka? Nebo je hlavním důvodem rozdílů porovnávání ne zcela identických stavů v různých experimentálních systémech?
- 4) V Hic1 deficientních buňkách byla pozorována aktivace NF-kappaB dráhy a bylo navrženo, že na její aktivaci se kromě Tlr2 zřejmě podílí i signalizace přes IL6. IL6 byl nedávno popsán jako cílový gen Hic1, ve vaší studii se však IL6 mezi diferenciaciálně exprimovanými geny neobjevil. Čím si to vysvětlujete?
- 5) V seznamu genů nadprodukovaných v distální části tenkého střeva GF myši mě zaujal gen kódující opioidní receptor kappa 1 (Oprk1). Jak si vysvětlujete nadprodukcii právě tohoto genu v souvislosti s absencí bakteriální mikroflory?

Závěr: Předložená práce dle mého názoru splňuje požadavky kladené na doktorskou dizertační práci, přináší nové a originální poznatky a dokládá schopnost autorky samostatně vědecky bádát. Práci Mgr. Jitky Stančíkové proto doporučuji k obhajobě jako podklad pro udělení titulu Ph.D. za jménem.

V Praze 10.6.2016

Mgr. Marie Macůrková, Ph.D.