

Oponentský posudek disertační práce Mgr. Aleše Dvořáka

Oponovaná disertační práce: Mitochondrie jako cíl protinádorové terapie

Autor disertace: Mgr. Aleš Dvořák

Oponovaná disertační práce Mgr. Aleše Dvořáka má celkem 145 stran. Skládá se z úvodní části (23 stran), kapitoly cíle práce (2 strany), metodické části (19 stran), výsledkové části (39 stran), diskuze (17 stran) závěru (2 strany) a literatury, která zahrnuje celkem 226 citací. V druhé části jsou uvedeny přílohy, legendy k jednotlivým grafům a publikace přijatá do tisku, kde je Mgr. Dvořák spoluautorem.

Cílem disertační práce bylo:

- 1/ Prokázat reduktivní karboxylaci v nádorových buňkách karcinomu mammy u dvou linií HTB-126 a MDA-MB-231.
- 2/ Prokázat existenci syntézy 2-hydroxyglutarátu ve zdravých buňkách, zaměřit se na vliv syntézy 2HG na proliferaci nádorových a zdravých buněk.
- 3/ Pomocí analýzy klinických vzorků stanovit koncentraci 2HG u pacientek s karcinomem prsu v moči a séru a najít korelaci mezi hladinami tohoto metabolitu a stádiem nemoci.

V disertační práci Mgr. A. Dvořáka jsou řešeny metabolické odlišnosti nádorových buněk. Autor se zaměřuje na dráhu reduktivní karboxylace a úzce související syntézu 2-hydroxyglutarátu. Vychází ze dvou svých publikovaných článků v impaktovaných časopisech (u jednoho je A.D. první autor). Obě tyto práce, také i disertační práce, jsou v oblasti výzkumu rakoviny aktuální, autor předkládá nová, dosud nepublikovaná fakta a srovnává je v kontextu celosvětového výzkumu.

Struktura práce odpovídá předkládanému zadání pro tzv. „dlouhou práci“, jako celek je přehledná a proporcionálně vyvážená. Koncept práce odpovídá požadavkům, kde po podrobném úvodu a metodice předkládá autor rozsáhlou výsledkovou část a fundovanou diskuzi.

Teoretický úvod je místy rozvláčný, autor sděluje hlavní myšlenku kapitoly či odstavce možná zbytečně dlouho a místy nejde přímo k věci, přesto jako celek splňuje všechny nutné aspekty a předkládá všechny potřebné informace pro pochopení dalších částí práce. Množství citovaných zdrojů odpovídá jak délce, tak formátu disertační práce a obsahuje řadu aktuálních publikací.

Metodicky je práce dobře zvládnuta, autor obvykle používá více nezávislých metod pro ověření výsledku, případně odkazuje na další výsledky v publikacích, v nichž je

spoluautorem. Významná část výsledků je získána pomocí plynové chromatografie s hmotnostní detekcí, které je v metodické části věnován největší prostor. Samostatné zvládnutí této metody bylo evidentně stěžejní pro daný projekt. Zároveň však autor využil řadu dalších metod buněčné biologie (FACS, WB, měření proliferace), které vhodně doplňují měření metabolitů a demonstrují úlohu studovaného enzymu na buněčné úrovni.

Mezi zásadní objevy řadím prokázání existence 2-hydroxyglutarátu ve zdravých buňkách. Z práce vyplývá, že se tento původně onkometabolit sice vyskytuje v různých biologických systémech *in-vivo/in-vitro*, ale že jeho dramatické zvýšení opravdu odpovídá fenotypu nádorových buněk. Zároveň se však ukazuje, že samotný 2-hydroxyglutarát může i ve zdravých buňkách figurovat jako regulátor proliferace.

V diskuzi autor srovnává své výsledky s ostatními pracemi v oboru a relevantně diskutuje naměřená data.

Závěr práce reflektuje cíle práce a odpovídá na položené otázky. Práce má přesah i do klinického výzkumu s využitím málo invazivních technik pro získání biologických vzorků krve a moče. Je patrné, že autor se hodně zabývá významem 2-hydroxyglutarátu, jehož studium má budoucnost, stále totiž není zcela zřejmý jeho význam a v současné době se teprve začínají měřit jeho chirální enantiomery a zkoumat jejich vliv v živých systémech.

ZÁVĚR:

Obsahem i rozsahem se jedná o velmi kvalitní disertační práci, metodicky na vysoké úrovni, která splňuje požadavky kladené na disertační práce.

Předložená disertační práce prokazuje předpoklady autora k samostatné tvořivé vědecké práci a k udělení titulu Ph.D. za jménem.

V Praze dne 3. 5. 2017

Doc. RNDr. Pavla Poučková, CSc.

Dotazy:

1/V současné době se měří R a S izomery 2HG – mají nějaký odlišný význam v nádorové buňce, a jaké hlavní enzymy je produkují?

2/ Mgr. Dvořák popisuje hladiny 2HG v různých typech buněk, včetně nerakovinových, kde 2HG také vzniká. Může autor vysvětlit rozdíl mezi fyziologickým a patologickým účinkem 2HG?