

„Mitochondrie jako cíl protinádorové terapie“

Disertační práce Mgr. A. Dvořáka se zabývá změnami mitochondriálního fenotypu vyvolanými nádorovou transformací v různých buněčných liniích (karcinom prsu, pankreatické β -buňky) a také nenádorovými liniemi primárních potkaních fibroblastů i hepatocytů. Autor se zaměřil na metabolické dráhy spjaté s mitochondriální izocitrát dehydrogenázou (reduktivní karboxylace 2-oxoglutarátu, jeho redukce na 2-hydroxyglutarát). Zvolené téma disertace je velmi aktuální, protože význam 2-hydroxyglutarátu není dosud podrobně prozkoumán a ovlivnění aktivit výše zmíněných metabolických drah by mohlo být využito například v rámci protinádorové terapie.

Autor zvolil klasický formát disertace, po teoretickém úvodu a cílech disertace je podrobně popsána metodika (nejsou zde ovšem uvedeny statistické postupy vyhodnocení dat, které musíme vyhledat v původních pracích připojených na konci práce). Metabolické analýzy byly prováděny pomocí GC-MS, které byly doplněny dalšími analytickými postupy - molekulárně genetickými přístupy (silencing, genotypizace), průtoková cytometrie, Western blot, a analýzami aktivit komplexů respiračního řetězce.

Výsledky práce jsou prezentovány v 5. části disertace, která je poměrně rozsáhlá s celkem 38 grafy a 2 tabulkami (vazba na publikované výsledky je zmíněna pouze u některých dat, což poněkud znesnadňuje odhadnout, co z výsledků již bylo publikováno). Nicméně výsledky disertace vycházejí primárně ze dvou publikací v impaktovaných časopisech, u jedné z nich je autor disertace prvním autorem. Disertační práce má i klinickou, dosud nepublikovanou, část, která naznačuje možný význam stanovení 2-hydroxyglutarátu v moči pacientek s karcinomem prsu.

Z hlavních výsledků disertace lze uvést:

1. Reduktivní karboxylace a syntéza 2-hydroxyglutarátu probíhá jak v liniích nádorově transformovaných, tak i zdravých potkaních hepatocytech a fibroblastech.
2. Jako zdroj 2-hydroxyglutarátu byl prokázán glutamin.
3. Hladina CO_2 , úroveň hypoxie a míra reduktivní karboxylace spolu úzce souvisejí.
4. Fyziologické funkce 2-hydroxyglutarátu zahrnují ovlivnění proliferčních dějů.
5. Koncentrace 2-hydroxyglutarátu v moči se jeví jako slibný marker progresu tumoru prsu.

Po formální stránce je práce vypracována pečlivě, seznam literatury obsahuje celkem 226 citací, text je přehledně členěn a napsán velmi srozumitelně, i když se někde autor nevyvaroval drobných nejasností a překlepů. V kapitole Závěry autor jasně zformuloval závěry a dosažené výsledky, ze kterých vyplývá, že cíle disertační práce byly splněny.

Otázky a náměty do diskuse:

1. Inkorporace ^{13}C ze značeného ^{13}C -glutaminu do lipidů i při vystavení zkoumaných buněčných linií normoxickým podmínkám nebyla pozorována. Lze tento nálezný nějak vysvětlit?
2. Existují literární údaje o hladinách 2-hydroxyglutarátu u nádorů, které se liší rychlostí progresu (např. pankreas vs. pomalu progredující nádory)?
3. Jak je u nádorových buněk zajištěn přísun glutaminu na úkor okolních buněk?
4. Proč se pro simulaci deplece glukózy v mediu použila galaktóza?

Závěr:

Předložená práce dokladuje schopnosti autora samostatně vědecky pracovat a sdílet své výsledky s odbornou veřejností. Práce Mgr. Aleše Dvořáka odpovídá požadavkům kladeným na disertační práci, a proto doporučuji, aby byla přijata k obhajobě a po úspěšné obhajobě byla postoupena pro řízení k udělení vědeckého titulu PhD.

V Praze 3.5.2017



RNDr. Marek Vecka, PhD.