

Posudek na doktorskou dizertační práci  
**MUDr. Barbory Lysé: Ovlivnění genové exprese u hyperproliferativních kožních onemocnění**

Dizertační doktorská práce MUDr. Barbory Lysé je z oblasti patobiologie kožních onemocnění, u kterých je významným etiologickým a patogenetickým faktorem sluneční záření. Vlastní výzkum se týká aktinické hyperkeratózy.

V úvodní části je uvedena řešená problematika v širším kontextu současných znalostí o poškození buněčné skladby epidermis v místech patologického hromadění keratinocytů spojeného s poruchou jejich diferenciací. Jedná se o problematiku velmi komplexní, ve které se prolínají obecné biologické poznatky týkající se buněčného dělení, buněčné diferenciací a programované buněčné smrti (apoptózy) s poznatky o etiologii a patogeneze hyperproliferativních kožních onemocnění. Zatímco první skupina poznatků je relativně konkrétní a vytváří značně konzistentní komplexní představu, druhá skupina poznatků je útržkovitá a spekulativní. Doktorská práce Dr. Lysé je z této druhé oblasti poznatků.

Zpracování úvodní části, která shrnuje stav poznatků z oblasti řešené problematiky, je přehledné a informativní. Obrázky na str. 5 a 15 jsou působivé, ale do vědecké publikace nejsou vhodné. Na str. 16 je uvedeno, že relativně nově byl identifikován gen nazvaný psoriasin. Chybí literární odkaz. Tento gen byl identifikován před více než 15 lety. To je příklad neurčitosti některých formulací. Na str. 24 má být správně HT1 a HT2 receptory, receptory pro serotonin (5-hydroxytryptamin), ne H1 a H2 receptory, což jsou receptory pro histamin, o kterém odstavec tak pojednává.

Cíle výzkumu nejsou specificky uvedeny v samostatné části, ale vyplývají zřetelně z ostatního textu.

Metodika výzkumné práce je založena na vyšetření exprese vybraných genů ve vzorcích lidské kůže, na úrovni jejich mRNA a v relaci k expresi genu pro beta-aktin, metodou semikvantitativní PCR. Vzorky pocházely z míst zdravé kůže a míst postižených aktinickou hyperkeratózou, a to před léčbou a v průběhu její léčby lokální aplikací látky ze skupiny imidazocholinaminů ("imiquimodem").

Výsledky jsou prezentovány adekvátně použité laboratorní metodě a přehledně.

Interpretace výsledků stanovení množství mRNA několika vybraných genů v komplexní tkáni je obtížná. Lze souhlasit s autorkou dizertace, že zjištěné změny odpovídají vyvolání lokálního zánětu v místech aplikace imiquimodu. To je očekávaný výsledek jestliže histologické vyšetření ukázalo změnu skladby tkáně ve smyslu výrazné infiltrace lymfocytů a histiocytů (makrofágy). Diskuze někdy sklouzává do neopodstatněných spekulací, jak je tomu v případě interpretace nepatrné změny (1,2x ??? - podle obr. na str. 52 skoro 2x - i to však představuje při vyšetření PCR rozdíl jen v jednom cyklu, tedy na hranici rozpoznatelnosti) hladiny mRNA pro receptor IL10 (str. 71). Autorka dizertace v diskuzi prokazuje dobrou

znalost a orientaci ve velmi komplexní oblasti exprese vyšetřovaných genů asociovaných se zánětlivou reakcí. Podobně je tomu i u vyšetřovaných genů asociovaných s nádorovým bujením.

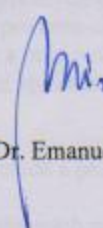
Nepříznivě hodnotím "Shrnutí" na str. 75. Z práce vyplývá, že podávaný lék vyvolal lokální zánětlivou reakci, nic víc. Výsledky autorku neopravňují k závěru, že léčba byla účinná v důsledku "antiproliferativního a antitumorózního" účinku podaného léku. Autorka nemá oprávnění označit geny HAX-1 a hurpin za "antiapoptotické", když na str. uvádí, že "... se předpokládá ..., ... je možné ...", že produkty těchto genů zvyšují odolnost buněk k apoptóze. Interpretovat snížení hladiny mRNA těchto dvou genů zvýšeným množstvím buněk podléhajícím apoptóze už vůbec nelze, ani na základě výsledků, ani na základě literárních údajů. V krátkém shrnutí jsou ještě dvě místa, kde autorka volně spekuluje.

Při souhrnném hodnocení dizertační práce doktorky Barbory Lysé se musím vrátit k jejím přednostem. Těmi je přehledné zpracování, prokázání dobré znalosti velmi komplexní a široké problematiky, solidně provedená vlastní měření odpovídající zvolené metodice a dostatečný počet vyšetření. Nedostatek, jak jsem již uvedl, spatřuji v příliš volných úvahách, které jdou za možnosti vědeckých zjištění. Celkové hodnocení této dizertační práce je však kladné. Předpokládám, že moje kritické připomínky budou předmětem diskuze, a že při publikaci výsledků recenzenti tak velkou volnost v interpretaci výsledků, jak se projevila v souhrnu dizertace, nepřipustili.

V dizertační práci je uvedena přítomnost mutací genu p53 v 80 % spinaliomů a skoro 90 %ní v kožních nádorech vyvolaných dlouhodobou expozicí UV záření u pokusných myší. Není však uvedeno, jak časté jsou mutace p53 v ložiscích aktinické hyperkeratózy, jejíž etiologickým a patogenetickým faktorem je také expozice UV záření.

Z dizertace je zřejmé, že její autorka se seznámila s metodologií výzkumné práce a získala původní výsledky. Prokázala dobrou znalost komplexní a široké problematiky týkající se buněčné patofyziologie. Dizertace řeší složitou klinickou medicínskou problematiku. Cíle dizertace proto považuji za splněné a doporučuji přijmout dizertaci jako podklad pro její obhajobu za účelem získání doktorského titulu PhD.

V Praze dne 3. 5. 2007



Prof. MUDr. Emanuel Nečas, DrSc