

OPONENTSKY POSUDEK

disertační práce "*Dipeptidylpeptidáza-IV a fibroblastový aktivační protein v gliomogenezi*"

Autor: RNDr. Jana Trylčová

Předložená disertační práce je členěna podle přijatých pravidel. Ve dvanáctistránkovém úvodu je popsána role DASH (dipeptidylpeptidáze-IV aktivitou a/nebo strukturou homologních) molekul v kancerogenezi a v nádorové transformaci gliálních buněk vedoucí ke vzniku gliomů. Detailněji jsou popsány molekulární charakteristiky DPP-IV, příklady biologických účinků jejího katalytického působení a dále i některé z biologických rolí DPP-IV nezávislých na její enzymové aktivitě. Z dalších DASH molekul jsou uvedeny vlastnosti fibroblastového aktivačního proteinu alfa a jeho působení v transformovaných neuroektodermových buňkách a vlastnosti dalších dipeptidylpeptidáz (II, 6, 8, 9, 10). Popsány jsou i substráty DASH molekul uplatňující se jako parakrinní regulátory významné v patogenezi nádorových onemocnění. Poslední část úvodní stati je věnována nádorovému mikroprostředí a jeho roli v progresi nádorů.

Dále jsou formulovány pracovní hypotézy a je uveden souhrn cílů práce. V následujícím soupisu použitých materiálů a metod jsou popsány buněčné linie používané k jednotlivých experimentech (lidské gliomové buněčné linie, primární buněčná linie nádorově asociovaných lidských fibroblastů a linie normálních lidských dermálních fibroblastů). Popsány jsou příprava transferovaných buněčných klonů a vektorů a širší spektrum biochemických a zobrazovacích metod použitých pro charakterizaci vlastností kultivovaných buněk. Podrobně je popsán experimentální model ortotopické xenotransplantace buněčných linií s uvedením metod pro zobrazení a hodnocení vlastností vytvořených lézí.

K nejvýznamnějším výstupům uvedeným ve výsledkové části patří úspěšná příprava stabilně transferovaných lidských glioblastomových buněčných linií regulovatelně exprimujících divokou formu lidského FAP, linií s enzymově neaktivní variantou FAP proteinu a linií s fluorescenčním reportérovým systémem mKate2, které byly použity pro fluorescenční zobrazení a monitoraci intrakraniálního růstu nádorů v *in vivo* experimentech. Podpora růstu nádorových buněk působením stromálních fibroblastů byla potvrzena kultivací gliomových linií v kondiciovaném médiu z linií fibroblastů jak z nádorového stromatu, tak fibroblastů z tkáně nenádorové. Navíc se ukázalo, že fibroblasty z nádorového stromatu významně zvyšují migrační

potenciál gliomových buněk. Výsledky svědčí pro přítomnost sekrečních faktorů produkovaných fibroblasty, pozitivně ovlivňujících růst a zvyšujících migraci gliomových buněk. Experimenty v koimplantačním *in vivo* modelu prokázaly, že gliomové buňky linie U87 implantované do mozkové tkáně myši vytvářejí intrakraniální kulovité nádory, ostře ohraničené, bez invaze do okolní tkáně. Implantace samotných fibroblastů ke vzniku nádorů nevedla. Získané výsledky jsou pozoruhodné, ale v daném uspořádání experimentů neumožňují posouzení vlivu koimplantovaných fibroblastů na růst tvořícího se experimentálního glioblastomu.

V následující diskusi autorka hodnotí postup přípravy stabilně transfekovaných gliomových buněčných linií a ověření indukovatelnosti exprese DPP-IV a FAP *in vivo*. Podrobněji jsou analyzovány výsledky vlivu nádorově asociovaných fibroblastů na gliomové buňky *in vitro*. Práce je doplněna bohatým seznamem použité literatury (168 prací). Připojené čtyři přílohy představují kopie tří publikací bezprostředně se vztahujících k tématu disertační práce, vesměs publikovaných v mezinárodních recenzovaných časopisech s IF větším než 1,0. V jedné této publikaci je předkladatelka disertační práce uvedena jako hlavní autor, v dalších dvou jako člen kolektivu autorů. Čtvrtou přílohou je kopie plakátového sdělení z mezinárodního symposia v Řecku.

K předložené disertační práci nemám podstatnější připomínky. Téma práce je bezesporu aktuální a získané výsledky slouží k bližšímu poznání gliomogeneze a vlivu stromálních fibroblastů na růstové vlastnosti gliálních nádorových buněk. Formální uspořádání práce odpovídá přijatým požadavkům. Odborná úroveň práce je nesporně velmi dobrá.

Otázky:

V podmínkách *in vitro* byl pozorován jednoznačný pozitivní vliv kondiciovaného média z normálních dermálních fibroblastů i z fibroblastů izolovaných z nádorového stromatu na růstovou aktivitu gliomových buněk. Je pozorovaný efekt doprovázen i morfologickými změnami těchto buněk?

V *in vivo* modelu se po implantaci gliomových buněk vytvořily v mozkové tkáni nádory, implantace samotných fibroblastů ke vzniku nádorů nevedla. Je mozková tkáň vhodným prostředím pouze pro gliální nádory? Není známo, že implantace jiných nádorových buněk za stejných podmínek by vedla k rozvoji ložisek i jiných nádorů (např. karcinomů?).

Závěr:

Předložená disertační práce splňuje jak po stránce obsahové, tak po stránce formální, všechna přijatá kritéria. Autorka prokázala, že je schopna vědecké problémy formulovat a samostatně řešit a že má všechny předpoklady k další samostatné tvořivé vědecké práci. Disertační práci hodnotím jednoznačně kladně a doporučuji ji k obhajobě. Zároveň doporučuji, aby byl autorce předložené práce po úspěšně provedené obhajobě udělen titul „Ph.D.“ za jménem.

Praha, 12. 12. 2017

Prof. MUDr. Václav Mandl

Ústav patologie 3. LF UF

Šrobárova 50

100 34 Praha 10