

OPONENTSKÝ POSUDEK DISERTAČNÍ PRÁCE

Identifikační údaje

Ing. Barbora Šumová

Pracoviště: Univerzita Karlova, 1. Lékařská fakulta, Klinika revmatologie,
Revmatologický ústav

Vedoucí práce: prof. MUDr. Ladislav Šenolt, Ph.D.

Název práce: Role nových profibrotických molekul v patogenezi systémové sklerodermie

Předložená disertační práce je komentovaným souborem publikací. Je napsaná na 57 stranách včetně obrázků, suplement a použité literatury. Přiloženo je pět publikací v časopise *Annals of Rheumatic Diseases*, které vycházejí z tématu disertační práce. Všechny tyto publikace splňují kritéria excelentní publikace. Disertační práce je členěna na úvodní část, která je z části obecným přehledem o systémové sklerodermii, dále se zabývá aktuálními údaji o etiopatogenezi systémové sklerodermie (se zaměřením na signální dráhy systémové sklerodermie) a také experimentálními zvířecími modely systémové sklerodermie. Následuje část, ve které je postulována hypotéza a cíle práce. V dalších kapitolách jsou zpracovány výsledky práce, diskuze, závěr a literatura čítající 186 publikací.

Systémová sklerodermie je nemoc, jejíž etiologie není známa. Patofyziologie je velmi složitá. Podle současného konceptu ji lze chápat jako komplex dějů vedoucích k vaskulopatii, zánětu a fibróze. V současnosti neexistuje žádná univerzální léčba systémové sklerodermie. Léčba probíhá v závislosti na jednotlivých manifestacích u jednotlivého nemocného. Částečně je úspěšná léčba u vaskulopatických a zánětlivých projevů. Není tomu tak v případě postižení fibrózou. Proto se výzkum patofyziologie nyní intenzivně zaměřuje na oblast fibrotického děje. V této oblasti jsou hledány nové terapeutické možnosti.

Předmětem práce je studium profibrotických faktorů a jejich vzájemných interakcí s TGF- β signální dráhou pomocí *in vitro* a *in vivo* analýz. Hypotéza práce vychází z předpokladu, že TGF- β aktivuje velké množství profibrotických transkripčních faktorů a jejich signálních drah.

V hlavní části této práce byl studován vliv GLI transkripčních faktorů na expresi profibrotických faktorů v kožních biopsiích pacientů, na buněčných kulturách i experimentálních modelech fibrózy. Dalším cílem hlavní části byla analýza vlivu farmakologické (GANT-61, vismodegib) a genetické inhibice profibrotických faktorů na expresi cílových genů zapojených do produkce kolagenu dermálními fibroblasty. Výsledky potvrdily TGF- β dependentní aktivaci GLI2 *in vitro* a *in vivo*. Rovněž byl prokázán vliv delece GLI2 na TGF- β indukovanou aktivaci fibroblastů. Selektivní inaktivace GLI2 ve fibroblastech inhibovala profibrotický efekt TGF- β signální dráhy *in*

in vivo. Farmakologická inhibice GLI2 za pomoci GANT-61 narušila TGF- β dependentní aktivaci fibroblastů. Tato část disertační práce, vyjma části farmakologické inhibice fibrózy, je hlavním dílem doktorandky na projektu popisovaném v disertační práci. Laboratorní zpracování této části je samostatným vědeckým přínosem doktorandky.

Další části disertační práce popisují roli nových profibrotických molekul (TRB3, Twist1, S100A4 a Sirt1) v patogenezi systémové sklerodermie. Na zpracování těchto projektů měla doktorandka parciální podíl ve smyslu *in vitro* experimentů, analýze genů pomocí qPCR, přípravy substrátů atd.

Celkově jde o studii vypracovanou z velké části během tříletého zahraničního studijního pobytu doktorandky v Department of Internal Medicine III and Institute for Clinical Immunology v Erlangenu pod vedením prof. Dr. med. Jörga Distlera. Výsledky dokončeného projektu doktorandky nebyly publikovány samostatně, ale byly přiřazeny ke studii Riufang Liang et al. s cílem publikovat celkové výsledky v časopise s velmi vysokým impakt faktorem. Výsledkem je excelentní publikace v časopise *Annals of Rheumatic Diseases* - Q1 (v příloze práce).

Práce neobsahuje kapitolu týkající se popisu metodiky. Přínosná by byla zejména v části, která byla vlastním nosným dílem doktorandky.

Lepší představě o samostatné vědecké práci doktorandky (podílu na projektu) by přispěla publikace původní práce v recenzovaném časopise, které by doktorandka byla prvním autorem.

Drobnou připomínkou může být několik málo překlepů a zřídka nejednotnost zkratk, které ale kvalitu formálního zpracování disertační práce nesnižují.

Práce splňuje obsahové předpoklady disertační práce, je psána pěkným, plynulým a čtivým jazykem. Literatura je citována konzistentně podle přijímané konvence. Téma předložené práce je vysoce aktuální, vědecky zajímavé až naléhavé. Metodické zpracování předložené práce je založeno na sofistikovaných a kvalitně provedených laboratorních analýzách. Práce samotná, zejména v kontextu celého projektu prezentovaného v přiložených publikacích, přináší nové vědecké poznatky o etiopatogenezi a možnostech léčebných cílů do budoucna.

Dotazy na uchazečku:

- Patogenetický koncept systémové sklerodermie předpokládá triádu vaskulopatie, zánětu a fibrózy. Všechny tyto klíčové procesy jsou vzájemně propojeny. Dotaz na doktorandku směřuje ke styčných bodům studovaného fibrózního děje s vaskulopatií nebo zánětem. Lze z poznatků vyplývajících z Vaší práce nebo z jiných publikovaných prací usuzovat na taková propojení? Jsou data nebo alespoň hypotézy o spojení Sirt1 a oxidačního stresu při vazoneuróze nebo vaskulopatii u systémové sklerodermie?

- Fibrózní děj u systémové sklerodermie postihuje ve zvýšené míře jen některé orgány, typicky plíce, kůže atd. Naopak tento děj není vystupňován v jiných orgánech, například v jaterním parenchymu. Lze nalézt pro tento fakt některá vysvětlení? Je fibrózní děj probíhající v oblasti cévní stěny podobný fibrózním dějům popsaným v této práci?
- Neexistuje zcela ideální zvířecí model systémové sklerodermie, který by zahrnoval všechny tři klíčové procesy patogeneze systémové sklerodermie v plném rozsahu. Který ze známých zvířecích modelů považuje doktorandka v tomto kontextu za nejvíce odpovídající?

Závěrem konstatuji, že práce přinesla nové výsledky na poli patogeneze systémové sklerodermie. Závěry práce jsou významným příspěvkem ke studiu nových potenciálních léčebných možností systémové sklerodermie. Práce otevírá další perspektivy výzkumu na poli etiopatogeneze systémové sklerodermie.

Předloženou disertační práci proto doporučuji přijmout k obhajobě. Práce prokazuje předpoklady autora k samostatné tvořivé vědecké práci a k udělení titulu Ph.D.

MUDr. Tomáš Soukup, Ph.D.

Subkatedra revmatologie,

II. interní gastroenterologická klinika,

Univerzita Karlova, Lékařská fakulta

a Fakultní nemocnice Hradec Králové

kontakt: tomas.soukup@fnhk.cz

v Hradci Králové 2. 1. 2018