

## **Oponentský posudek disertační práce Mgr. Michala Koce**

### **Molekulární mechanismy indukce apoptosy u nádorových buněk**

Mgr. M. Koc si ve své disertační práci stanovil za cíl

- a) přispět k pochopení indukce apoptosy deprivací železa (včetně mechanismů resistance a identifikace transportních proteinů)
- b) přispět k objasnění mechanismů indukce apoptosy taxany (včetně mechanismů resistance)
- c) charakterizovat apoptosu indukovanou fotosenzitivními deriváty porfyrinů.

Všechny tři dílčí cíle mají jedno téma společné, a tím je hledání nových možností pro využití apoptosy při léčbě maligních onemocnění. Téma je to z pohledu obecné biologie i z pohledu možného praktického využití velmi aktuální. Disertace navazuje na problematiku, která je v laboratoři doc. RNDr. Jana Kováře, DrSc. řešena systematicky mnoho let.

Disertační práce je napsána na 110 stranách textu a je členěna způsobem, který odráží fakt, že se jedná o komentovaný soubor publikací (chybí samostatné kapitoly metodika a výsledky). V první části (cca 22 stran) je úvod do problematiky studia rozdělený na několik dílčích kapitol, které odpovídají cílům práce. Úvod je napsán dobře a zahrnuje odkazy na nové původní práce. Z mého pohledu je možná trochu nadbytečný obecný úvod o apoptose a místo něj mohl autor podrobněji diskutovat např. nové názory na klasifikaci buněčné smrti.

Místo tradiční kapitoly výsledky je uvedena kapitola Komentář k presentovaným publikacím. V této části na 10 stranách textu autor rozebírá výsledky ve 4 podkapitolách. V první kapitole jsou to výsledky týkající se indukce apoptosy deprivací železa zveřejněné ve 2 publikacích v časopisech s impakt faktorem, ve kterých je Mgr. Koc prvním autorem. První publikace přináší prioritní výsledky týkající se významu translokace proteinů Bax z cytosolu na mitochondrie. Druhá práce přináší zajímavý poznatek týkající se významu dostupnosti železa pro indukci apoptosy.

Druhá podkapitola se týká transportu železa a je podložena publikací v Cell. Physiol. Biochem., u které je Mgr. Koc jedním ze spoluautorů. V této práci byl prokázán význam membránového proteinu HSP90 pro vazbu železa.

Třetí podkapitola se týká významu taxanů pro indukci apoptosy a je podpořena výsledky publikovanými v časopise Anticancer Res., kde je Mgr. Koc druhým autorem. Tyto výsledky považuji za velmi zajímavé, neboť dokazují velkou variabilitu cest vedoucích k

indukci apoptosy u senzitivních a rezistentních buněk a atypickou aktivaci kaspázy 9 kaspázou 3.

Čtvrtá podkapitola se zabývá možností využít porfyriny k indukci apoptosy po ozáření světlem (podpořeno článkem v Photochem. Photobiol., kde je Mgr. Koc spoluautorem). Tyto výsledky jsou nadějně z pohledu možných klinických aplikací.

Disertační práce obsahuje kopie všech uvedených prací, takže je možné detailně posoudit použité metodické přístupy i dosažené výsledky.

V seznamu použité literatury autor uvádí přes 250 citací, což svědčí o velké informovanosti celé pracovní skupiny. Bezchybné formální zpracování citací zase svědčí o tom, že autor dobře zvládnul práci s některým z databázových publikačních systémů. Upoutala mě jenom jedna nepřesnost, práce uvedená jako zdroj u obrázku č. 1 není uvedena v seznamu použité literatury.

K velkým kladům této disertační práce patří velmi pečlivé zpracování textu i důsledné používání klasické gramatické varianty apoptosa. Také jazyková a grafická úroveň práce je příkladná. Proto velmi překvapí hrubá gramatická chyba na první straně úvodu (naštěstí opravdu ojedinelá).

K autorovi mám tento dotaz: Chelátory železa se v klinické medicíně používají při prevenci kardiomyopatií. Podle autora, deprivace železa představuje slibný prostředek protinádorové léčby (str. 22). Jsou známy nějaké údaje, týkající se výskytu maligních onemocnění u pacientů léčených chelátory železa?

## **Závěr**

Na předložené práci oceňuji zejména systematický přístup, který je patrný v celé práci. Vychází z jasně formulovaných hypotéz, pečlivě zvolených metodických přístupů a zodpovědné interpretace výsledků. Autorovi se podařilo zvládnout řadu náročných vědeckých metodik, včetně přípravy western blotů, průtokové cytometrie a konfokální mikroskopie. Prokázal také schopnost původní vědecké výsledky diskutovat, interpretovat a publikovat v renomovaných vědeckých časopisech.

Na základě výše uvedených údajů si myslím, že předložená práce splňuje kritéria kladená na disertační práci. Jsem přesvědčen, že Mgr. Michal Koc prokázal, že má předpoklady k samostatné vědecké práci a doporučuji udělení titulu Ph.D. za jménem.

Prof. MUDr. RNDr. Miroslav Červinka, CSc.

V Hradci Králové 10. 9. 2007