

OPONENTSKY POSUDEK

disertační práce *"Analysis of growth-inhibitory mechanisms of flubendazole in malignant melanoma cells"*

Autor: PharmDr. Kristýna Čáňová

Předložená disertační práce je sepsána v anglickém jazyce, je uspořádána podle obvyklých pravidel. Po souhrnu a seznamu použitých zkratk následuje rozsáhlejší teoretický úvod zahrnující epidemiologii a morfologické subtypy maligního melanomu, základní diagnostické přístupy a pravidla stagingu. Další část úvodu je věnována melanocytům, jejich původu, vlastnostem, biologickým aktivitám a procesu melanogeneze. Detailněji jsou uvedeny genové alterace vyskytující se u maligního melanomu a signální dráhy, jejichž poruchy se uplatňují v rozvoji nádorového onemocnění. V následující části je popsán proces chemorezistence se zaměřením na maligní melanom a dále jsou uvedeny terapeutické přístupy a protinádorové léky, včetně derivátů benzimidazolu. Protinádorové účinky jednoho z nich – flubendazolu (FLU) v maligním melanomu jsou tématem předložené disertační práce. V závěru úvodní stati je popsán proces tzv. mitotické katastrofy. Dále jsou uvedeny cíle práce, k nimž patří určení biologického účinku flubendazolu na normální lidské melanocyty, hodnocení cytotoxicity FLU v buněčných liniích maligního melanomu, určení mechanismů jeho cytotoxického působení v těchto buněčných liniích a porovnání s jinými buněčnými modely. Dalším cílem byla charakterizace primárních buněčných kultur izolovaných z melanomů a ověření cytotoxicity FLU v těchto buněčných kulturách.

Následující stat' uvádí široké spektrum metod používaných v experimentální práci a pro hodnocení účinků FLU na používané buněčné linie. Tyto metody umožnily detailní hodnocení viability a proliferační aktivity buněk, alterací buněčného cyklu, detailní popis morfologických změn buněk a subcelulárních struktur, změn enzymatických aktivit souvisejících s procesem apoptózy a změn vybraných molekul zúčastněných na regulacích buněčného cyklu a v procesu apoptózy.

Nejrozsáhlejší část práce uvádí výsledky, které přinášejí nové poznatky o biologických aktivitách flubendazolu v modelovém systému buněčných linií maligního melanomu. Byly stanoveny hodnoty IC₅₀, charakterizovány změny v regulacích buněčného cyklu nádorových

buněk, popsán proces mitotické katastrofy a změny regulačních molekul následné apoptózy. Dále byly popsány rozdíly v účinku FLU na nádorové buňky a na nenádorové lidské melanocyty. Pozoruhodný je výsledek pilotní studie s nálezem významných odlišností v morfologickém obrazu změn navozených FLU i v procesu buněčné smrti mezi buňkami stabilních linií maligního melanomu a buňkami primární buněčné kultury izolované z excidovaného melanomu.

V závěrečné části disertační práce jsou diskutovány získané výsledky se zaměřením na nově získané poznatky. V následujícím seznamu použité literatury je citováno 89 převážně recentních článků týkajících se tématu práce.

K předložené disertační práci nemám podstatnější připomínky. Téma práce je bezesporu aktuální a získané výsledky významně rozšiřují poznatky o účincích flubendazolu na buňky lidského maligního melanomu. Odborná úroveň práce je nesporně velmi dobrá, část výsledků byla publikována v renomovaném mezinárodním odborném časopisu s faktorem impactu.

Otázky:

1. Jednou z morfologických změn navozených FLU v buněčných liniích maligního melanomu je vznik obrovských mnohojaderných buněk. Obecně tyto buňky vznikají buď nerozdělením buňky na konci mitózy (což je popsáno v použitém modelu), nebo buněčnou fúzí. Byla tato druhá možnost vzniku obrovských mnohojaderných buněk také pozorována v použitém modelu?
2. Podle našich pozorování závisejí růstové vlastnosti a morfologický obraz buněk některých buněčných linií maligního melanomu na rychlosti pasážování buněk. Je možné tento fenomén pozorovat i ve vámi používaných buněčných liniích?

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, 26. 4. 2018

Prof. MUDr. Václav Mandys, CSc.

Ústav patologie 3. LF UK a FNKV
Šrobárova 50
100 34 Praha 10