



Sektor imunologie a gnotobiologie  
Ved.: prof. RNDr. Blanka Říhová, DrSc.  
Videňská 1083  
142 20 Praha 4

## Posudek na disertační práci Mgr. Pavola Szabo „*Glykobiologie nádorů hlavy a krku*“

Předložená disertace vychází z pěti publikací (u dvou z nich je předkladatel prvním autorem) a dvou zatím udělených patentů. Všechny publikace jsou vedeny snahou pochopit úlohu galektinů-1 a -3 v extracelulárním prostředí nádorů a úlohu a specifitu karcinom-asociovaných fibroblastů při vzniku a udržení maligního procesu.

První práce se věnuje endogennímu lektinu, galektinu-3 a jeho vazebným schopnostem, zejména po fosforylaci, kterou realizuje protein kináza CK1 na N-konci molekuly. Fosforylace vazbu detekovatelně neovlivňuje. Interakci s tkáněmi, jako je suprabazální vrstva epidermis nebo diferencovaný dlaždicový karcinom jazyka, je možné inhibovat laktózou.

V rámci druhé práce byly porovnávány fibroblasty, izolované z benigního histiocytomu (dermatofibromu) s fibroblasty izolovanými z maligního bazaliomu s cílem zjistit, zda CAF (karcinom-asociované fibroblasty) mohou ovlivnit fenotyp normálních keratinocytů. Ukázalo se, že fibroblasty izolované z benigního nádoru navozují u zdravých lidských keratinocytů vysokou expresi keratinu-19 a produkci extracelulární matrix, která je bohatá na galektin-1. Na druhé straně výsledky kokultivace fibroblastů, izolovaných z maligního fibrozního histiocytomu se zdravými keratinocyty byly podobné jako výsledky kokultivace s normálními kožními fibroblasty.

V oblasti týkající se vlivu karcinom-asociovaných fibroblastů na normální lidské keratinocyty získala skupina profesora Smetany Jr., ve které svou disertaci Mgr. Szabó vypracovával, již významné a respektované výsledky. Disertant se proto, mimo jiného, věnoval opačnému efektu tj. vlivu normálních keratinocytů a nádorových buněk linie FaDu na zdravé lidské fibroblasty. FaDu buňky podporovaly produkci prozánětlivého cytokinu IL-6 a chemokinů IL-8 a CXCL1. Medium z kokultivace zdravých fibroblastů s nádorovou linií FaDu stimulovalo u zdravých lidských keratinocytů expresi keratinu-8, která byla vyšší než exprese stimulovaná médiem, ve kterém byly kultivovány pouze FaDu buňky. Kombinovaná blokáda uvedených cytokinů protilátkami expresi keratinu-8 u normálních keratinocytů zcela inhibovala. V tomto patentovaném výsledku vidí autoři možný budoucí cíl terapie.

Významným zjištěním a dalším potvrzením úlohy epiteliální-mesenchymální interakce v nádoru je fakt, že CAF pocházející z bazaliomu nepůsobí jenom na zdravé lidské keratinocyty v tom smyslu že u nich navozují expresi keratinu-8 a keratinu-19, ale že navozují fenotypovou změnu i u kokultivovaných myších fibroblastů NIH 3T3. Během kokultivace získávají myší fibroblasty některé

znaky kmenových buněk jako je například exprese Oct-4, Sox-2 a Nanog a schopnost diferencovat se do osteoblastů. To je diferenciační potenciál podobný mezenchymálním kmenovým buňkám. Bioaktivita stromálních fibroblastů je ovlivněna růstovými faktory jako je TGF  $\beta$  (transforming growth factor  $\beta$ ), IGF2 (insulin-like growth factor 2), FGF7 (fibroblast growth factor 7), LEP (leptin) a NGF (nerve growth factor).

Komplexní úlohu CAF v nádorovém mikroprostředí naznačují i další výsledky prokazující, že tyto buňky nezávisle na svém původu (kožní metastáza karcinomu prsu, kožní bazaliom, melanom, squamozní karcinom hlavy a krku) navozují v nádorové linii prsu EM-G3 expresi keratinu-8. Na druhé straně všechny testované typy fibroblastů včetně normálních kožních fibroblastů, 3T3 myších fibroblastů a 3T3 fibroblastů ovlivněných kokultivací s bazaliomem výrazně stimulují expresi keratinu-14.

Výsledky prezentované v předložené práci jsou výborné, i když se Mgr. Szabo ve své práci bohužel nevyhnul řadě tiskových chyb (překlepy). To ovšem na jinak kvalitní disertaci nemá podstatný vliv. Musím ale také konstatovat, že řazení diskuze k publikovaným výsledkům je poněkud zmatené. Výsledky jsou logicky uvedeny jako kapitola 8 se seznamem publikací, z kterých disertace vycházela. Pak je ale jako podkapitola 8.1 uvedena pouze první publikace a všechny ostatní včetně patentů jsou uvedeny jako podkapitola 8.2... Jako podkapitola 8.3 je téměř náhodně vložen patent. Dá se říci, že patenty volně „prolínají“ disertací na několika místech, někdy i bez názvu. Je to škoda, významně to snižuje přehlednost celé práce.

Na kandidáta mám několik otázek: a) považuje se keratin-8 (vyskytuje se v epidermis pouze prenatalně a postnatalně je přítomen v buňkách dlaždicových karcinomů se špatnou prognózou) za prognosticky významný onkofetální antigen, b) je nepochybné, že se exprese keratinu-8 dá indukovat. Dá se potenciální indukce nějak inhibovat, c) je změna transkriptomu (tj. různých regulačních drah) CAF závislá na prostředí z kterého tyto buňky pochází? Jinými slovy, jsou změny v regulačních drahách různé u různých CAF?

Závěrem bych ráda zdůraznila, že výsledky disertanta, které jsou nedílnou součástí práce celé laboratoře prof. Smetany, jsou nejenom teoreticky objevné a zajímavé, ale mohou mít v budoucnu i aplikační výstupy. Nemám pochyb o tom, že kandidát je talentovaným vědeckým pracovníkem se schopností samostatné tvůrčí práce, a proto doporučuji, aby mu byl udělen titul **Ph.D.**

6. 4. 2012



Prof. Blanka Říhová, DrSc.