

## POSUDEK OPONENTA DISERTAČNÍ PRÁCE

Mgr. Soni Hubáčkové

„DNA damage and signalling pathways in cellular senescence“

Předmětem disertační práce je výzkum mechanismů buněčné senescence se zaměřením na roli signalizačních drah, v tomto případě na Jak/Stat signalizační dráhu a expresi PML (promyelocytárního leukemického proteinu). Dále byl studován cytokinový expresní profil během senescence a jeho vztah k regulaci tumor supresorových genů asociovaných s poškozením DNA a buněčnou senescencí. Jako poslední mechanismus je analyzována tvorba „se senescencí asociovaných heterochromatinových fokusů“ (SAHF) a jejich vztah k časné buněčné senescenci.

Disertační práce je ve formě zkrácené verze, je koncipována jako soubor 12 kapitol a čtyřech publikovaných primárních článků, jedné publikace v podobě Editorial a úctyhodných 194 citací. Autorka disertační práce je první autorkou na dvou publikacích, přičemž původní práce otištěná v J. Biol. Chem. je velmi hodnotná. Kvalitu publikací dokládá především fakt, že jsou publikovány v základních a prestižních časopisech oboru s vysokým impakt faktorem (dosažený průměr IF je 6,891). Vědecká aktivita a produkce autorky je bezpochyby nadprůměrně kvalitní a zaslouží ocenění.

Ke slabým místům disertační práce lze počítat snad jen členění jednotlivých kapitol, kde by bylo vhodné zařadit kapitolu „Results“, kdy za každým výsledkem by následoval odkaz na příslušnou publikaci. Přispělo by to k lepší čtivosti textu a orientaci čtenáře.

### Otázky oponenta:

- 1) Jak probíhá časná senescence u IFN-beta a -gamma knock-out myši?
- 2) Jaký je průběh časné senescence indukované genotoxickými léky v rámci buněčné populace? Je synchronizován, nebo do tohoto procesu vstupují buňky postupně a víceméně náhodně? A je tento proces závislý na dávce genotoxické látky?
- 3) Genotoxických látek existuje celá řada a autorka disertační práce jich celkem použila pět. Je mechanismus jejich účinku stejný?
- 4) V experimentech byla senescence indukována u normálních a maligních buněk? Liší se tyto buňky nějak průběhem senescence např. kinetikou nebo dynamikou prosesu?
- 5) Během indukce senescence genotoxickými látkami je kromě IFN-beta a -gamma indukována také produkce prozánětlivých cytokinů. Znamená to, že si organismus sám reguluje činnost imunitního systému, který pak aktivně mrtvé buňky odstraní?
- 6) Jsou interferony a prozánětlivé cytokiny indukovány současně, nebo lze pozorovat nějakou časovou závislost a posloupnost v indukci jednotlivých interferonů a cytokinů? Probíhá tato indukce stejně u různých buněčných typů?
- 7) IFN-beta a -gama stimulují buněčnou senescenci po působení genotoxických léků prostřednictvím aktivace Jak/Stat signalizace a navíc ještě stimulují pomocí ISRE sekvence tvorbu a akumulaci PML

NB jaderných tělísek. Lze tedy říci, že oba interferony představují tzv. centrální molekuly tohoto procesu a jsou nadřazeny cytokinům – zejména IL-6?

8) IL-6 je induktorem IL-6/PI3K/Akt dráhy, na jejímž konci je aktivace NFkB transkripčního faktoru, o němž je známo, že je přímo zodpovědný za indukci transkripce mnoha prozánětlivých cytokinů.

Znamená to tedy, že IL-6 na rozdíl od IFN-beta a -gamma má významnější ne-li hlavní roli v indukci odpovědi imunitního systému ve smyslu odstranění starých buněk?

9) Na str. 12 je uvedeno, že IL-6 samotný je schopen indukovat transkripci PML genu prostřednictvím vazby na STAT3 do ISRE elementu v PML genu. Ale hned v odstavci následujícím je, že IL-6 down-reguluje PML transkripci. Jak to tedy je?

10) Je p16/Rb dráha nějak propojena s drahou Jak/Stat ve smyslu jejich synergizace?

11) Existují buněčné typy resistantní k časnou senescenci? Lze v nějaké fázi tento proces zvrátit tak jako je tomu v časných stádiích u apoptóz?

12) Autorka v sekci Significance of Results předpokládá využití poznatků získaných studiem signalizačních drah majících roli v aktivaci buněčné senescence v klinické praxi v oblasti nádorové terapie. Má tím na mysli „umělé“ navození uvedeného procesu pomocí indukce aktivace Jak/Stat/PML signalizace genotoxickými léky?

Jak budou chráněny před účinkem normální buňky neboli je možné tento proces indukovat selektivně jen u maligních buněk? Byl takový přístup vyzkoušen na zvířecích modelech malignit?

Závěrem je nutné vyzdvihnout množství i kvalitu publikovaných prací autorky, která dosáhla H-index 4 a 55 citací. Dizertační práce bezpochyby prokazuje schopnost samostatné vědecké práce autorky a na jejím základě lze proto bez výhrad doporučit disertační práci k obhajobě PhD.

RNDr. Šárka Růžičková, Ph. D.  
Biotechnologický ústav AV ČR, v. v. i.