

Oponentský posudek disertační práce

Student: Mgr. Kateřina Kreisingerová

Název práce: Molekulární mechanismy nádorové patogeneze signální cesty Hedgehog u vybraných nádorových typů

Doktroský studijní program: Molekulární a buněčná biologie, genetika a virologie

Oponent: MUDr. Libor Macůrek, Ph.D. (ÚMG AV ČR)

Předmětem předkládané disertační práce Mgr. Kateřiny Kreisingerové je soubor čtyř originálních a jedné souhrnné publikace zveřejněných v recenzovaných časopisech. Na třech publikacích je studentka první autorkou, což svědčí o jejím zásadním podílu na dosažení těchto publikačních výstupů. Celkově hodnotím dosaženou publikační aktivitu uchazečky jako nadprůměrnou. Práce je sepsána v anglickém jazyce. Úvod poskytuje přehledný souhrn poznatků o významu signální dráhy SHH v průběhu embryonálního vývoje a především v nádorech. Důraz je kladen především na způsob aktivace signální dráhy, naopak popis hlavních efektorů či transkripčních cílů této dráhy je poměrně stručný. Drobnou výtku mám rovněž k formálnímu členění práce, kdy pasáže Výsledky a Diskuze jsou spojeny do jednoho celku, což autorku svádí spíše rekapitulovat dosažené výsledky než kriticky hodnotit jejich význam v širším kontextu. Považoval bych za vhodnější doplnit přiložené publikace průvodním komentářem a diskuzi uvést jako samostatnou kapitolu. Celkově je však práce sepsaná srozumitelně a rozsahem odpovídá zvyklostem.

Stěžejním tématem předkládané práce je vliv aktivace signální dráhy Hedgehog (SHH) na vlastnosti nádorových buněk a jejich citlivost k léčbě. Hlavním přínosem této práce je popis survivinu/BIRC5 jako nového transkripčního cíle SHH dráhy. Bylo prokázáno, že GLI se váže na promotor survivinu a zvyšuje jeho expresi. Naopak působení inhibitoru GANT61 vedlo ke snížení exprese survivinu. Korelace mezi hladinami survivinu a GLI byla pozorována v nádorových tkáních, nicméně příčinná souvislost mezi aktivací SHH dráhy expresí survivinu a přežitím nádorových buněk nebyla experimentálně ověřena. V tomto ohledu by bylo vhodné lépe definovat cíle práce a neuvádět, že bude studován význam SHH dráhy v apoptoze. Dalším důležitým pozorováním byla zvýšená citlivost buněk maligního melanomu ke kombinaci inhibitoru GANT61 a BCL2 inhibitoru obatoclax. Při vypracování této práce si studentka osvojila celou řadu buněčně biologických a molekulárně biologických technik. Pochopení molekulárních mechanismů SHH dráhy může v budoucnu přispět k vývoji nových protinádorových léčiv případně k návrhu vhodných kombinací různých chemoterapeutik.

K předkládané práci mám doplňující otázky:

Q1. Popisujete, že survivin/BIRC5 je transkripčním cílem SHH dráhy (Publikace 1) a zároveň, že inkubace buněk s GANT61 inhibítor indukuje apoptózu (Publikace 2). Do jaké míry je tento fenotyp závislý na poklesu hladiny survivinu?

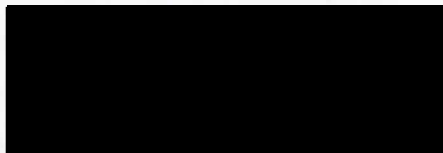
Q2. Diskutujte prosím další možné funkce survivinu v normálních i nádorových buňkách. Mohou pozorované změny v hladině exprese survivinu částečně odrážet i změny v distribuci buněk v rámci buněčného cyklu vyvolané působením GANT61 inhibítoru?

Q3. Řada publikací využívá nižší koncentraci GANT61 pro inhibici SHH dráhy. Jakým způsobem byla ověřena specifita GANT61 inhibítoru v koncentraci 10-20 μM ?

Q4. Synergistické působení GANT61 inhibítoru a obatoclaxu je zřejmé jen u některých buněčných linií melanomu, zatímco jiné tento fenotyp nevykazují. Lze předpovědět, které buňky budou citlivé k podání inhibítorů a bylo by možné toho nějakým způsobem využít k léčbě? Pozorujete podobnou synergii i při použití SMO inhibítorů?

Přes drobné připomínky k členění práce lze shrnout, že studentka Mgr. Kateřina Kreisingerová prokázala podrobnou znalost problematiky, metodickou zdatnost i schopnost interpretace dosažených výsledků. Předkládaná práce dokládá předpoklady autorky k samostatné tvůrčí vědecké práci, a proto ji doporučuji k obhajobě a k udělení titulu „Ph.D.“ za jménem.

V Praze 12.5.2021



MUDr. Libor Macůrek, Ph.D.