

Oponentský posudek doktorské disertační práce

MUDr. Jiří Vachtenheim

Karlova Univerzita v Praze

1.lékařská fakulta

Doktorský studijní program „Experimentální chirurgie“

Název práce: Vztah proteinu SIVA a signálních drah Hedgehog/GLI a mTOR ke vzniku a progresi nemalobuněčného karcinomu plic. (Relationship of protein SIVA and signaling pathways Hedgehog/GLI and mTOR to the origin and progression of non-small cell lung cancer)

Školitel: Prof. MUDr. Robert Lischke, Ph.D.

Zvolené téma je v současné době velmi aktuální. Incidence i mortalita na rakovinu plic ve světě i v České republice neustále narůstá a pochopení molekulárně genetických mechanismů karcinogeneze i progresu onemocnění již vedlo a nadále povede k nalezení účinných léčebných strategií. Zapojení chirurgů do multidisciplinárního řešení diagnostiky i léčby zhoubných nádorů je klíčové.

Předložená disertační práce má celkem 84 stran textu. Obsahuje 12 obrázků a 1 tabulku. Přehled problematiky je podán na 25 stranách, dále jsou uvedeny hypotézy a cíle práce (2 strany), metodika (5 stran), výsledky (20 stran), diskuze (5 stran), závěr (1 strana), souhrn v českém a anglickém jazyce (2 strany), přehled vlastních publikací (2 strany) a použítá literatura (13 stran). Autor při práci na své disertaci vycházel ze dvou vlastních publikací, v nichž byl v jednom případě prvním autorem, v druhém případě spoluautorem. Po formální stránce lze práci stěží něco vytknout, je psána srozumitelnou spisovnou češtinou, se snahou o minimalizaci nepřeložených odborných termínů, s naprostým minimem překlepů. Při konečné revizi textu jen nebylo sjednoceno uvedení tečky za číselným označením podkapitol (tj. 1.4.4. vs 1.4.4). U obrázků 1. a 2. by k lepší srozumitelnosti přispělo uvedení názvů zkratk v popisu obrázku.

Úvod (přehled problematiky) podává základní informace o epidemiologii, rizikových faktorech a histopatologické klasifikaci bronchogenního karcinomu. Dále uvádí podrobný přehled molekulárně genetických mechanismů vzniku různých buněčných nádorových alterací. Zejména v případě nemalobuněčného karcinomu plic identifikace takové řídicí mutace umožnila vývoj molekulárně cílené léčby, jejich výčet je uveden. V dalších částech úvodu jsou popsány fyziologické vlastnosti, význam pro karcinogenezi obecně a pro nemalobuněčný plicní karcinom zvláště u signálních drah Hedgehog, mTOR a u proteinu SIVA.

Bez připomínek k obsahu Úvodu.

Cíle práce jsou charakterizovány jejím názvem, jsou zaměřeny na význam a vztah signální dráhy Hedgehog a proteinu SIVA u NSCLC.

Metodické postupy, které byly použity k řešení zadaných úkolů, jsou založeny na bohatých zkušenostech spolupracujícího pracoviště, které se studiem molekulárně genetických faktorů v patogeneze nádorů zabývá dlouhodobě. Aplikované analytické a statistické metody

odpovídají stanoveným cílům. Soubor nemocných zahrnutý v provedených studiích je dostatečně rozsáhlý.

Připomínky:

Název podkapitoly 3.1.1 „Buněčné kultury“ je nepřesný, jde o popis kultivačních médií. Další podkapitole „Buněčné linie“ by slušelo uspořádání použitých linií do přehledné tabulky, vzhledem k tomu že v dalších textech je na jednotlivé linie často odkazováno.

V podkapitole 3.2.2 „Odebírané vzorky“ je definována odebíraná tkáň nepřesně „o velikosti 5 x 5 mm³“.

Výsledky jsou zpracovány tematicky, popsány podrobně v textu a dokumentovány obrázky, které jsou většinou kombinací fotodokumentace molekulárně genetického testu (Western blot) a grafického znázornění výsledků.

Připomínky:

Obrázek 4, str. 42 – „koncentrace GANT61 byla vždy 20uM...“, přitom v metodice i ve výsledném obrázku jsou uvedeny dvě hodnoty koncentrace GANT61 inhibitoru, a to 10 uM a 20 uM

Odstavec 4.2.2 „hladina proteinu SIVA-1 byla v podstatě vždy vyšší v nádorové tkáni, jen v některých párech vzorků byla stejná i u kontroly..několik vzorků mělo hladinu SIVA-1 nedetekovatelnou“. Jako hlavní výsledek je uveden obrázek 7, z kterého nelze kvantitativní rozdíly mezi hladinou proteinu SIVA v nádorové a normální tkáni bezpečně vyčíst, i když z bližšího zkoumání obrázku se zdá, že opravdu ve většině vzorků, nikoli však „v podstatě vždy“, je množství proteinu SIVA-1 větší v nádorové než normální plicní tkáni. Přitom v metodice je uvedeno, že kvantifikace výsledků metody Western blot je možná pomocí ImageJ software (str. 35). Tato kvantifikace měla být přehledně ve výsledcích, ať již tabulkou, nebo v textu, vyjádřena.

Odstavec 4.2.4: nesouhlasí uvedená buněčná linie v textu (A427) s korespondujícím výsledkem na obrázku 9, část F (A549), navíc v textu je chybný odkaz na Obrázek 9 (část E).

Diskuze získaných výsledků je rozsáhlá, zdůrazňuje originalitu některých poznatků, zejména důkaz o aktivační roli proteinu SIVA-1 na signální dráhu Hedgehog u NSCLC. Autor zde prokázal širokou znalost studovaných problémů.

Bez připomínek k diskuzi.

Význam dosažených výsledků

Výsledky této práce především ukázaly, že jednotlivé komponenty signální dráhy Hedgehog jsou exprimovány u buněčných linií lidského nemalobuněčného karcinomu plic. Dále bylo zjištěno, že zkoumané buněčné linie nemalobuněčného karcinomu plic nebyly citlivé k působení specifického inhibitoru signální dráhy Hedgehog. Druhá část výsledků prokázala, že protein SIVA-1, který je obecně známý pro svou tumor supresorovou funkci, je přítomen v nádorové tkáni lidského nemalobuněčného karcinomu plic, což podporuje hypotézu, že jeho funkce u těchto nádorů je onkogenní. Nejpodstatnějším, a to novým a originálním nálezem je zjištění, že protein SIVA-1 aktivuje signální dráhu Hedgehog, čímž byl naznačen jeden z možných mechanismů proonkogenního působení proteinu SIVA-1 u lidského nemalobuněčného karcinomu plic.

Závěr:

Problematika, která byla v předložené disertační práci řešena, je velmi aktuální a významná. Získaných výsledků bylo dosaženo ve spolupráci s pracovištěm, kde aplikace molekulárně biologických metod ve výzkumu nádorů probíhá dlouhodobě na nejvyšší úrovni. Tomu odpovídá i kvalita použitých metod, které sledují současné trendy v této výzkumné oblasti.

Autor pečlivě shrnul současné znalosti předmětu svého výzkumu, v disertační práci podrobně popsal použité metody a přes drobné nepřesnosti v jedné podkapitole dobře interpretoval získané výsledky. Prokázal tak, že je dobře seznámen s danou problematikou, a že je schopen dále rozvíjet vědecké přístupy v dané oblasti.

Posuzovaná dizertační práce splňuje požadavky kladené na disertační práci, a proto doporučuji přijetí práce k obhajobě a kladné vyřízení žádosti o přiznání akademického titulu „ philosophiae doctor“ (“Ph.D.”)

V Praze 17. 10. 2021

Doc. MUDr. Milada Zemanová, Ph.D.

