



Posudek oponenta disertační práce

Autor disertační práce: MUDr. Štěpán Novák

Název práce: Vzájemná komunikace a vztah mezi nádorovými buňkami a nádorovým mikroprostředím

Školitel: RNDr. Pavol Szabo, Ph.D.

Oponent: prof. MUDr. Zdeněk Krška, DrSc.

HODNOCENÍ DISERTAČNÍ PRÁCE

1. Aktuálnost zvoleného tématu

Zvolené téma disertační práce je aktuální a vzhledem k situaci, že stále celosvětově stoupá incidence maligního nádorového onemocnění, lze předpokládat nejen aktuálnost, ale i růst významu v čase. Výsledky získané v rámci experimentálního výzkumu disertační práce rozšiřují současný výzkum i poznatky v problematice duktálního adenokarcinomu pankreatu (PDAC) a spinocelulárního karcinomu hlavy a krku, což vyplývá i z článků publikovaných autorem.

2. Cíle práce

Předložená disertační práce, která se zabývá problematikou spojení nádorového prostředí s nádorovými buňkami. Fokus konkrétní cílů disertační práce byl především v interakci čtyř buněčných linií duktálního adenokarcinomu pankreatu (PDAC), kondiciovaných médií fibroblastů, buněk odvozených z ascitické tekutiny pacientů v terminálním PDAC a primárním tumorem PDAC a kolerace klinických charakteristik s imunohistochemického procesu detekcí tenascin, fibronectinu a galectinu s odlišením buněk spinocelulárního karcinomu, buněk z okraje resekování biologického materiálu a buněk normální neinfiltrované sliznice u pacientů s diagnózou spinocelulárního karcinomu hlavy a krku. V rámci obou stanovených cílů byl proveden genomový profil s aplikací dané analýzy.

Cíle disertační práce jsou v pravém slova smyslu experimentální studií, vědecky jsou erudovaně nastaveny a zvoleny.

Petent podrobně analyzuje nádorové mikroprostředí, a to z hlediska interakce maligně transformované buněčné populace a okolní tkáně, což se aktuálně jeví, že je podstatný faktor v patogenezi nádorových onemocnění. Nádorové prostředí, a to především z hlediska kmenových buněk, nádorově acidiovaných fibroblastů, dále růstových faktorů – cytokinů a interlinkinů, též extracelulární matrix a její remodelace u nádorů, dále galectinů a imunitního systému; podrobně je analyzována nádorové genetiky celý tento oddíl práce zpřehledňuje tabulka č. 1, biologicky aktivní látky produkované cancer associated fibroblasts, CAFs, kde je uveden i biologický význam dané aktivní látky. Rovněž tak tabulka č. 2 zhodnocující základní potenciační terapeutické cíle protinádorové léčby objasňuje zájem petenta a důležitost studií tohoto typu, neboť ukazuje stádium využití daných faktorů přímo v klinické praxi.

Disertační práce má dva cíle, kde prvním cílem je popsat chování mezi fibroblasty - healthy fibroblasts. Cíl 1 je zaměřen na interakci mezi PANFs (PDAC) aktivovanými CAFs (cancer associated fibroblasts) a komerčními liniemi PDAF. Se stanovením genetického profilu HF a PANF a vzájemné srovnání fenotypu nádorových buněk PDAC s nádorovými buňkami ascitické tekutiny u pacientů s terminálním stádiu PDAC. Cíl jedna byl rozdělen do 4 bodů:

- porovnání rychlosti růstu 4 komerčních PDAC linií v běžném kultivačním médiu a při použití médií z HF A PANF



- určení rozdílné exprese buněčných markerů spojených s nízkou buněčnou diferenciací a epitelálně-mezenchymální tranzicí přechodem u komerčních linií PDAC ve standardním medií z HF A PANF
- rovnání exprese IL-6, IL-8 a MFGE8 a jejich receptorů u komerčních buněčných linií PDAC u buněk z punktátu ascitů a u nádorových buněk ze vzorku PDAC.
- srovnání genové exprese FH, PANF a CAF maligního melanomu.

Druhým cílem studia bylo srovnání fenotypu a genetického profilu mezi NM (normal mucose cells), MSR (surgical resection margin cells) a SCC (squamous cell carcinoma) u pacientů s HNSCC head and neck squamous cell carcinoma). Opět ve třech bodech:

- Analýza imunohistochemického profilu markeru ten, fn a gal u NM MSR a SCC.
- Nalezení vztahu mezi postižením krčních uzlin a přežití pacienta na podkladě exprese ten, fn a gal u MSR a SCC.
- Porovnání genové exprese na podkladě DNA microarray analýzy ten pozitivních a ten negativních vzorků SCC.

Práce s buněčnými liniemi je velmi dobře zpracována, petent se jimi dobře zabýval a celý výzkum dle nastaveného modulu vykonal.

3. Vyjádření k použitým metodám zpracování

Jako hlavní metody výzkumu byly v rámci obou nastavených cílů genomové profily s aplikací konkrétní analýzy, a to u prvního cíle především kultivace stanovených buněčných linií biologického materiálu PDAC a u druhého cíle kultivace linií biologického materiálu u spinocelulárních tumorů v oblasti hlavy a krku.

Experiment byl zaměřen na rozbor, disperzi získaných vzorků biologického materiálu v nastavených kultivacích a jejich následné komparaci a statistickém vyhodnocení získaných dat.

Metody zpracování byly podpořeny kvalitní analýzou dostupné odborné literatury a syntézou získaných informací a znalostí. Metody zpracování disertační práce byly opravdu kvalitně nastaveny, celý výzkum tím byl velmi kvalitně připraven a organizován.

4. Vyjádření k výsledkům disertační práce

Výsledky nastavených cílů disertační práce byly správně interpretovány s podrobnou formou zpracování získaných dat z provedených kultivací. Disertační práce ve svých nastavených cílech přináší především závěry týkající se možnosti predikce či užití cílené terapie u maligního onemocnění PDAC a malignity spinocelulárních tumorů v oblasti hlavy a krku. Z dlouhodobého hlediska se u prvního cíle zaměřeného na PDAC se zdá, že fokus výzkumu je správný a cílená terapie by mohla přinášet uspokojivé výsledky, u cíle druhého výsledky experimentu potvrdily současnou vědní znalost bez zásadního prognostického významu. Výsledky výzkumu přinesly velice dobré závěry, které svůj rozsah a očekávání předčily.

5. Vyjádření k formálnímu zpracování disertace

Formálně je práce zpracována v dobré a odpovídající kvalitě disertační práce. Předložená práce je sepsána na 99 stranách, vlastní práce na 60 stranách. Práce je rozdělena na úvod do problematiky, cíle práce, materiál a metodika práce, výsledky, diskusi a závěr. Textová část je doplněna 13 tabulkami a 14 obrázky. Disertační práce obsahuje recentní velmi obsáhlý seznam použitých publikačních zdrojů s více než 360 odkazy, seznam zkratk a přílohy zahrnující publikační aktivitu autora. Práce je napsána v českém jazyce



bez významných pravopisných chyb, avšak s velkým množstvím použitých zkratk, na základě kterých se čtenář musí velmi často odkazovat na seznam zkratk. Celkové zhodnocení formální stránky disertační práce je dobré.

6. Vyjádření k významu dalšího rozvoje vědy

Vzhledem k situaci, kdy incidence nádorového maligního onemocnění stále stoupá, je význam efektivity pokročilého výzkumu a vývoje zásadní a podpora nového poznání a fixace získaných objevů pro společnost nezbytně nutná. Význam disertační práce spočívá především v predikci nádorového onemocnění PDAC a spinocelulárního karcinomu hlavy a krku a korektním nastavením následné terapie metodou využití interakce resekovaného biologického materiálu a jeho kultivaci v rámci genomového profilu.

7. Celkové hodnocení

Disertační práce zpracovává problematiku interakce nádorových buněk s nádorovým mikroprostředím u PDAC a u spinocelulárních nádorů oblasti hlavy a krku. Práce je koncepčně, metodicky a primárně výzkumně nadmíru dobře zpracována. Dílčí poznatky z nastavených cílů byly dobře nastaveny, experimentálně kvalitně zpracovány, statisticky zhotoveny a výsledky kvalitně interpretovány. Práce velmi dobře proniká do oblasti, která není standardně v rámci diagnostiky a analýzy získaných vzorků živých systémů vyhodnocována a přináší tudíž nový pohled na problematiku genomového profilu při kultivaci resekované tkáně.

8. Otázky na autora

Zdali a jak nádorové mikroprostředí může být ovlivněno neoadjuvantní terapií, chemoterapií či radioterapií?

ZÁVĚR

Předložená disertační práce je komplexně zpracována. Autorem práce MUDr. Štěpánem Novákem byly kvalitně splněny stanovené cíle, odborně a systematicky vedena experimentální studie, struktura statistického vyhodnocení i celková evaluace práce. Autor prokázal samostatný systematický přístup a významnou odbornou vědecko-výzkumnou koncepci.

Předložená disertační práce splňuje všechny požadavky standardně požadované pro tvorbu disertační práce. Na základě výše uvedených skutečností a dle §47 VŠ zákona 111/98 Sb. doporučuji práci přijmout k samotné obhajobě disertační práce. V případě úspěšné obhajoby doporučuji udělit autorovi disertační práce MUDr. Štěpánovi Novákovi titul Ph.D.

V Praze 13.11.2023

prof. MUDr. Zdeněk Krška, DrSc.