

Oponentský posudek disertační práce.

Název práce: Úloha proteínázami-aktivovaného receptoru-2 (PAR-2) v patogenezi lidských onemocnění.

Autor: MUDr. Radoslav Matěj

Pracoviště: Oddělení patologie, Fakultní Thomayerova nemocnice s poliklinikou, Praha

Předložená práce se zabývá studiem role proteázami aktivovaného receptoru 2 (PAR-2) v patogenezi některých onemocnění.

V úvodu je detailně popsána rodina proteázami aktivovaných receptorů (struktura, signální mechanismy a biologická funkce). Následuje kapitola definující cíle práce. Vlastní práce pak sestává ze tří projektů, z nichž každý je popsán a diskutován zvlášť a je doložen publikacemi.

Formální úprava a členění

Formálně dobře zpracovaná práce o 92 stranách je uspořádaná formou obecného přehledu problematiky s komentářem publikovaných výsledků ze 4 publikací. Obecnou část tvoří 26 stran. Nechybí seznam zkratk.

Součástí práce je kompletní seznam prací aspiranta související s tématem disertace (4 publikace s IF a citačním ohlasem - z toho 2x jako první autor; 4 odborná sdělení – z toho 2x jako první autor) a taktéž seznam dalších publikací a jiných odborných sdělení (4 publikace -z toho 1x jako první autor; 13 jiných odborných sdělení z toho 8 x jako první autor). Seznam je doplněn přehledem absolvovaných kurzů.

Aktuálnost

Práce řeší aktuální problematiku buněčné signalizace – zabývá se rolí skupiny receptorů aktivovaných proteázami v patogenezi některých onemocnění – především v zánětlivé a imunitní odpovědi, v procesu radiačního poškození tkání a v procesu vzniku a progresu nádorové transformace. Aspirant prokazuje výbornou orientaci v dané problematice, je uvedeno celkem 66 klíčových a recentních citací.

Stanovené cíle

Cíle disertace jsou jasně formulované – jde o tři logické projekty:

1. Vyhodnocení změny exprese PAR-2 na zvířecím modelu experimentálně vyvolané akutní pankreatitidy.
2. Imunohistochemická lokalizace PAR-2 na strukturách tkání CNS v časném postiradiačním období u myši kmene C57B16
3. Vyhodnocení exprese PAR-2 v infiltrativním duktálním karcinomu mammy (*in vivo* a *in vitro* studie)

Zvolené metody

V první studii byly prováděny experimenty na zvířecím modelu (při zachování všech právních norem). Autoři používali metody izolace tkání (Langerhansových ostrůvků), metody imunohistochemie, Western blotting a RT-PCR. V publikované práci jsou výše uvedené metody dobře popsány a výsledky svědčí o jejich dobrém zvládnutí.

Ve druhé studii byl opět použit zvířecí model, imunohistochemie a RT-PCR, navíc byly prováděny experimenty ozařováním.

Ve třetí studii byla prováděna kultivace buněčných linií, RT-PCR, průtoková cytometrie a MTT test.

Výše uvedené metodiky svědčí o velmi dobrém přehledu a zvládnutí experimentálních postupů – toto je jedna z nejkvalitnějších částí disertační práce. Aspirant má skutečný přehled o širokém spektru metodik!

Výsledky, diskuse, splnění stanovených cílů

Práce přinesla několik důležitých výstupů:

- Byla prokázána aktivace PAR-2 na cévních strukturách, na epitelových elementech a v Langerhansových ostrůvcích v průběhu akutní zánětlivé léze pankreatu. Výsledky ukazují na důležitost role PAR-2 v indukci a vývoji akutní pankreatitidy. Látkami ovlivňujícími aktivitu proteázových receptorů bude pravděpodobně možné terapeuticky ovlivnit průběh zánětlivého procesu. Publikovaná práce má 5 citačních ohlasů.
- Výsledky druhého projektu potvrzují nálezy předchozích *in vitro* studií na liniích hipokampálních neuronů prokazujících signifikantní zvýšení PAR-2 po poškození radiační zátěží. Výsledky práce podporují předpoklad role PAR-2 v rozvoji poškození mozkové tkáně.

- Přítomnost aktivovaného PAR-2 ve všech případech invazivního ductálního karcinomu (*in vivo* na tkáňových vzorcích a *in vitro* na buněčných liniích) dokládá jeho význam v iniciaci a progresi nádorového onemocnění. Navíc byl prokázán vliv PAR na proliferaci a migrační aktivitu buněčných liniích mammárního karcinomu.

Diskuse je ve všech případech aktuální, jsou obecně nastíněny perspektivní směry dalšího výzkumu.

Výsledky a závěry práce dokazují, že cíle byly splněny a celá disertace splnila svůj účel.

Kritické poznámky

Jde pouze o okrajové poznámky nesnižující vědeckou úroveň práce:

- vzhledem k tomu, že dvě práce byly prováděny na zvířecím modelu, nelze zcela přesně tvrdit, že je studována role PAR-2 v patogenezi lidských onemocnění, jak je uvedeno v názvu práce
- chybí potvrzení o přijetí třetí práce do tisku (Folia Biologica)

Otázky pro aspiranta

1. Byly prováděny či plánuje se provedení mikrodisekčních experimentů a srovnání exprese PAR-2 v jednotlivých tkáňových kompartmentech (stroma a epitelové struktury) u mammárních karcinomů?
2. Byla studována exprese PAR v mozkových nádorech – pokud ano s jakými výsledky?

Závěr

Kvalitní disertační práce, jednoznačně splňuje podmínky stanovené zákonem (§ 47 VŠ zákona 111/98 Sb.), aspirant osvědčil hluboké znalosti, zvládl metodiky a přinesl nové poznatky. **Doporučuji k úspěšnému obhájení a získání titulu Ph.D.**

V Olomouci 12. 1. 2006

Doc. MUDr. Jiří Ehrmann, Ph.D.