

Posudek na dizertační práci Mgr. Tomáše Knedlíka

Glutamátcarboxypeptidasa II jako cíl farmaceutického zásahu a molekulární adresa pro léčbu nádorových onemocnění

Předkládaná dizertační práce se zabývá studiem významu proteinu Glutamátcarboxypeptidasy II (GCPII) pro diagnostiku a léčbu karcinomu prostaty. Jedním z motivů studia bylo zavést a validovat metodu stanovení hladiny GCPII v cirkulaci pokusných osob jako potenciálního markeru pro diagnostiku nádorových onemocnění. Dalším cílem byla charakterizace hladiny a aktivity GCPII ve zvířecím modelu (myši) pro další využití ve studiu cílené léčby nádorů. Velmi originálním cílem pak byl vývoj unikátního systému schopného označit buňky se zvýšenou expresí GCPII, např. buňky karcinomu prostaty, kde zvýšená exprese GCPII byla dříve nalezena. Vědecky se tato práce zabývá originální a velmi závažnou problematikou. Lze tedy konstatovat, že téma dizertační práce bylo zvoleno vhodně a v souladu s nároky kladenými na doktorské studium. Dizertační práce byla předložena v anglickém jazyce.

Hlavní pozitiva dizertační práce

Přehled literatury na 25 stránkách, bohatě doprovázených obrázky, uvádí čtenáře do studované problematiky. Tento přehled působí konsistentně bez zbytečných podrobností a přitom nic podstatného není vynecháno. Vyzdvihuji velmi dobrou kvalitu anglického textu bez nepřesností a překlepů, s řadou formulačně zajímavých obrátů.

Cíle práce jsou jasně stanovené, vyplývají z informací podaných v úvodu, a celkový postup je v souladu s moderními trendy výzkumu u nás i ve světě. Orientace na vývoj polymerního konjugátu se zakotveným inhibitorem GCPII a fluoroforem představuje velmi důležitý příspěvek k dalšímu rozvoji personalizované medicíny.

Výsledkovou část představují tři práce, se stručným popisem motivace studia a souhrnu hlavních výsledků, publikované týmem doktoranda. Na všech publikacích je Mgr. Knedlík hlavním autorem. Metodicky jsou všechny práce na vysoké úrovni a výsledky studia značně rozšiřují oblast poznání či přinášejí zcela unikátní zjištění v oboru.

Následuje část s diskuzí a závěry, která srozumitelnou formou shrnuje a komentuje dosažené výsledky. Interpretace výsledků odpovídá naměřeným datům. Autor správně vyzdvihuje zásadní zjištění, která vyplývají z řady různorodých experimentů, které se navzájem podporují a tvoří velmi kompaktní celek. Závěry odpovídají dosaženým výsledkům. Mezi hlavní a originální výsledky patří:

- 1/ vývoj a validace metody, která umožňuje specifickou detekci cirkulujících hladin GCPII u lidských dobrovolníků a je tak použitelná i pro pacienty s nádory.
- 2/ Charakterizace aktivity lidské i myší GCPII, včetně hodnocení účinnosti hlavních inhibitorů, které se zásadně neliší. Srovnání hladin GCPII v různých tkáních myšího modelu, naznačující možné rozdíly v tkáňové distribuci, ve srovnání s člověkem.
- 3/ Příprava unikátního systému mimitika s inhibitorem GCPII, které je schopné cílit na buňky s vysokou expresí tohoto enzymu a lze jej využít jak k detekci, tak potenciálně i k potlačení nádorového procesu. Za nejzásadnější zjištění považují univerzálnost tohoto systému (iBodies), který lze modifikovat i pro jiné cíle (proteiny).

Tři publikace v časopisech s celkovým impakt faktorem blížícím se 20 jsou jasným důkazem, že doktorská práce Mgr. Knedlíka je velmi kvalitní a zasluhuje vysokého uznání.

Autoreferát, psaný česky i anglicky, splňuje požadavky kladené na tuto formu výstupu.

Komentáře a otázky k vlastní práci

Jak je uvedeno výše, práce je napsaná srozumitelným jazykem a bez zásadních faktických či formálních chyb. Lze snad jen podotknout, že dobrovolníci, sledovaní v práci zabývající se hladinou GCPII v cirkulaci, byli věkově významně mladší než je průměr u pacientů s nádorem prostaty (69 let) a věkové rozložení nebylo nejvhodnější ani pro studium závislosti hladiny GCPII na věku probandů.

Všechny práce přiložené k dizertaci byly recenzovány renomovanými odborníky, tudíž následující dotazy slouží spíše k podpoře diskuze a k širšímu náhledu do uvedené problematiky.

1/ V prostatě jednoho ze samců myší je slabý proužek s vyšší molekulovou hmotností – jedná se o nespecifitu? GCPII je exprimován v lidské prostatě a v myší (i lidské) slinné žláze – lze z této spojitosti vydedukovat něco o funkci, případně substrátech v těchto tkáních?

2/ Podle výsledků imunoblotingu myšního modelu (Fig. 13a,b) se zdá, že GCPII má v různých tkáních různou molekulovou hmotnost. Je to dáno tkáňově specifickými rozdíly v povaze glykosylace nebo to má jiný důvod, např. transkripční/sestříhové varianty? Zkusili jste proteiny před detekcí deglykosylovat?

3/ Je možné analýzou v plasmě zjistit z jaké tkáně GCPII pochází, eventuálně odlišit protein z nádoru od proteinu ze zdravé tkáně? Je možné využít iBodies k cílené izolaci nádorových buněk z cirkulace (CTC) pacientů?

Dizertační práce, dle mého názoru, splnila svůj účel, protože autor prokázal schopnost samostatné vědecké práce. Výsledky byly publikovány ve velmi kvalitních odborných časopisech a významně rozšiřují oblast poznání. Z těchto důvodů doporučuji předloženou práci k obhajobě.

V Praze 2. ledna 2018



Doc. RNDr. Pavel Souček, CSc.