



UNIVERZITA KARLOVA

Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

POSUDEK OPONENTA HABILITAČNÍ PRÁCE

Název práce:	Faktory regulující expresi genů rodiny ABC transportních proteinů
Místo habilitace:	Univerzita Karlova, Lékařská fakulta v Hradci Králové
Obor habilitace:	Lékařská biologie
Uchazeč:	RNDr. Pavel Dvořák, Ph.D.
Pracoviště:	Univerzita Karlova, Lékařská fakulta v Plzni, Ústav biologie
Oponent práce:	doc. PharmDr. Martina Čečková, Ph.D.
Pracoviště:	Univerzita Karlova, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové Katedra farmakologie a toxikologie

Práce RNDr. Pavla Dvořáka, Ph.D., předložená v rámci habilitačního řízení, je sepsána na celkem 174 stranách. Tyto zahrnují 37 stran úvodu do studované problematiky, přehled materiálu i použitých metod, po nichž následuje přehled výsledků výzkumu ve formě celkem osmi publikací sestávajících ze sedmi původních experimentálních článků a jedné práce přehledové. Přitom sedm příspěvků bylo publikováno v časopisech s IF, jeden je indexován v databázi Scopus. Uchazeč je prvním autorem u pěti z uvedených prací, u jedné z prací je autorem korespondujícím.

Předložená habilitační práce se zabývá membránovými proteiny z ABC transportérové rodiny, a to zejména z pohledu struktury a funkce genů a jimi kódovaných membránových proteinů. V úvodní části poskytuje přehled jednotlivých podrodin ABC transportérů, shrnuje příklady vrozených onemocnění spojených s nefunkčním transportérem a detailněji pak charakterizuje ABC transportéry z pohledu jejich role v lékové rezistenci, což je linka, které se věnují i v práci obsažené a okomentované vědecké příspěvky. Tyto představují hlavní výzkumnou činnost uchazeče za posledních pět let v oboru. V prvním z příspěvků, kterým je práce rešeršního charakteru, se autor zabývá problematikou kontrolovaného přerušení léčby CML tyrosin kinázovými inhibitory, jež jsou substráty ABC transportérů, a to z pohledu laboratorní i diagnostické praxe. Následující původní experimentální práce se týká též myeloidní leukémie, tentokrát akutní, a je retrospektivní studií, v níž je zpracována cytogenetická charakteristika pacientů a v závislosti na ní analyzována jejich prognóza v návaznosti na allogenní transplantaci kostní dřeně. Další tři původní experimentální práce pak byly věnovány hodnocením profilů exprese lidských ABC transportérů u nádorů prsu, kolorekta, pankreatu a nádorů ovária a snaze o identifikaci klastrů ABC transportérů, jež by mohly být korelovány se stupněm diferenciaci i rozsahu nádoru. Dvě další prezentované autorovy práce se pak zabývají expresí genů KRAS signální dráhy u duktálního adenokarcinomu pankreatu a v závěrečné, poměrně nedávném vědeckém příspěvku pak uchazeč představuje nový směr svého výzkumu v podobě studia regulace exprese ABC genů a nalezení významných DNA sekvencí využitelných pro hledání funkčních elementů jiných genů. Na závěr habilitační práce autor poskytuje přehled i dalších publikací nezahrnutých do výsledkové části, celkem 12 prací v časopisech s IF, u nichž je v sedmi případech prvním autorem a dále 8 prací vydaných v recenzovaných periodikách bez IF a jednu monografii.

Kvalita příspěvků svědčí o kontinuální hodnotné vědecké činnosti uchazeče, jeho úspěšném profesním vývoji spojeném s profilací v kvalitního vědce se specializací na bioinformatické analýzy molekulárně genetických dat.

Formální připomínky:

Práce je psána srozumitelně, našla jsem v ní pouze několik překlepů či jazykových nepřesností (např. str. 17 „devět genů.. jsou označovány jako MRP příbuzné geny“ Kromě gramatického překlepu autor zřejmě myslel „MDR příbuzné geny“ z angl. „Multidrug resistance related genes“; „antiaritmika“ – správně „antiarytmika“, str. 28 „tyto léčiva“, str. 33 „glykolitické“). ABCB1 transportér je představován dvakrát, nejprve na straně 17, poté znovu na straně 24, již s uvedením tradičního označení P-glykoprotein. Pro plynulost textu by přitom stačilo představení pouze jedenkrát a následné používání zvoleného označení/zkratky. Kapitola 3 by mohla být nazvána obecněji jen „rezistence buněk na léčiva“, neboť nezahrnuje pouze rezistenci zprostředkovanou ABC proteiny. Jako farmakolog bych též považovala za vhodnější přednostní používání českých generických názvů léčiv (např. cyklosporin A, aktinomycin, daktinomycin, chinin, chinidin), než jejich anglických ekvivalentů. Podobně by bylo vhodné držet se českého jazyka při vysvětlování zkratk v legendě k obrázku 2. Uvedené připomínky však nikterak nesnižují vědeckou hodnotu předkládané práce.

Dotazy oponenta:

1. Jaká je aktuální praxe a postupy pro použití TKI v terapii CML zejména s ohledem na možnost přerušení léčby? Bylo za dobu od publikace Vaší přehledové práce na toto téma prokázán vliv přerušení na klonální expanzi rezistentních leukemických kmenových buněk? Pokud ano, potvrdila se role ABC transportérů ve vzniku rezistence u těchto buněk?
2. Vaše práce ve velké míře využívají pro hodnocení genové exprese metodu qPCR. V některé z prací jste upřednostnili normalizaci na množství RNA a pracovali jen s hodnotami Ct, zatímco v jiné využili housekeeping geny, popř. geometrický průměr Ct hodnot pro HK geny. Který přístup a kdy považujete za vhodný? Jaký způsob ověření stability HK genů ve studovaných vzorcích byste doporučil?
3. Kdy byste při bioinformatickém zpracování rozsáhlých genových expresních dat upřednostnil klastrovou analýzu a kdy statistické vyhodnocení?
4. Víte, zda se Vámi identifikované klastry ABC transportérů u daného nádorového onemocnění dají použít či se již používají pro včasnou diagnostiku relapsu? Byly by využitelné, popř. využívají se již i v rámci „tekutých biopsií“ např. ve formě z nádoru uvolněných buněk či v plazmě přítomné cfDNA?
5. Ve Vaší nejnovější práci identifikujete nový předčasně otevřený čtecí rámec ABCA1, který se i překrývá s hlavním čtecím rámcem primátů a zmiňujete možnost, že by tento kódoval malý bioaktivní protein. Máte představu, o jaký protein by se mohlo jednat a jakou fyziologickou i fylogenetickou roli by tento mohl mít?

Závěr posudku:

Publikované výsledky uchazeče jednoznačně představují cenné vědecké výstupy v oblasti hodnocení exprese ABC transportérů a díky poměrně rozsáhlé bioinformatické analýze získaných dat mohou být podkladem pro řadu dalších studií s bezprostředním klinickým dopadem jak v oblasti diagnostiky, tak i terapie nádorových onemocnění. Práce jednoznačně dokládá vysokou schopnost analýzy i prezentace výzkumných výstupů uchazečem a dokládá jeho vysoké vědecké kvality. Závěrem bych tak chtěla konstatovat, že tato habilitační práce jednoznačně potvrzuje vysoký stupeň schopností autora provádět cílený vědecký výzkum v oblasti „Lékařské biologie“ se zaměřením na bioinformatickou analýzu. Z formálního i odborného hlediska práce splňuje všechny požadavky ve smyslu zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách, a proto ji doporučuji k obhajobě a udělení titulu docenta.

V Hradci Králové 27.10.2020

doc. PharmDr. Martina Čečková, Ph.D.

Katedra farmakologie a toxikologie
Univerzita Karlova, Farmaceutická fakulta