

Oponentský posudek habilitační práce

Vliv specifických buněčných proteinů a nádorového mikroprostředí na protinádorové účinky chemoterapeutik

autor: Mgr. Petr Beneš, PhD.

Ústav experimentální biologie PřF MU Brno

v oboru: Molekulární biologie a genetika

Habilitační práce Mgr. Petra Beneše, PhD. o rozsahu 42 stran textu obsahujícího 5 obrazových příloh, 1 tabulku a 15 stran literárních odkazů, doplněného přílohami (celkem 11 kopií vlastních publikací). Předložená práce má charakter přehledu vlastních výsledků rozděleného tematicky do 4 subkapitol (Retinoidy, Katepsin D a BCL-2, Mikroprostředí a Wedelolakton) a doplněného vlastními publikacemi, které dokládají dlouholetou systematickou práci autora v těchto oblastech. Je nutné vyzvednout autorovu snahu o ucelenou prezentaci celé problematiky a to na úrovni recentních poznatků.

Obsah práce

V úvodní 4 stránkové části autor stručně vysvětluje a vymezuje obsah své habilitační práce, která se dotýká terapie nádorů a potenciálu jejího úspěchu. Zvláště se zaměřuje na vysvětlení pojmu biologická (cílená) léčba a stručně shrnuje některé její dostupné léčebné modality. Dále zdůvodňuje možné příčiny léčebného selhání a podtrhuje všeobecně uznávanou nutnost individuálního přístupu ke každému pacientovi i každé diagnóze v rámci tzv. individualizované terapie (terapie „šité na míru“).

V subkapitole „Retinoidy“ autor nejprve shrnuje dosavadní poznatky o retinoidech a jejich metabolismu. Zdůrazňuje, že jde o významné regulátory buněčné proliferace, diferenciaci a buněčné smrti, které se uplatňují jak během embryonálního vývoje, tak i během postnatální tkáňové diferenciaci a regulace funkční homeostázy různých orgánových systémů. Stručně také shrnuje poznatky o jejich preventivním a terapeutickém využití v onkologii. Dále diskutuje možnosti zvýšení citlivosti nádorových buněk k retinoidům inhibitory HDAC, DNMT a LOX/COX.

V subkapitole „Katepsin D a BCL-2“ se autor zabývá aspartátovou proteázou katepsinem D, její úlohou v metabolických procesech organismu a jejím významem při regulaci buněčné proliferace, buněčné smrti i při invazivním růstu a metastazování nádorů.

Subkapitola „Mikroprostředí nádorů“ je zaměřena zejména na popis funkce a významu jedné jeho složky a to cévního zásobení nádorů, které významně ovlivňuje přísun kyslíku a živin nádorovým buňkám, a tím nepřímo ovlivňuje klonální selekci a rezistenci na terapii nádorových buněk. Zmiňuje se rovněž o méně známém procesu „tkáňové hypertenze“.

Další subkapitola „Wedelolakton“ se zabývá podrobnějším popisem účinků přírodní látky wedelolaktonu izolované z rostliny *Wedelia calandulaceae*, která vykazuje široké spektrum

účinků v tradiční lidové medicíně Asie a Jižní Ameriky. Exaktně byl prokázán její účinek antivirový, detoxikační i protinádorový, což habilitant podrobně popisuje.

Cíl studia

V habilitační práci se pak autor zabývá mechanismy účinku a cytotoxicitou některých protinádorových léčiv, na jejichž studiu se podílel.

Použité metody

Jsou velmi podrobně popsány v doložených publikacích a dokazují excelentní metodickou orientaci a zkušenost autora.

Výsledky

Autor se spolupracovníky popsali synergii účinku kyseliny all-trans retinové (ATRA) a kyseliny okadaikové (OA) na diferenciaci buněk monocytární řady. Tento účinek vysvětlují změnami aktivace proteinů c-Jun, RAR a fosfatázy PP2A. Rovněž potvrdili význam Ca iontů pro zmiňovaný diferenciační proces tím, že užili selektivní ionofor ionomycin, který zvyšuje cytoplasmatickou koncentraci Ca iontů. Dále prokázali, že aktivace signální dráhy Ca²⁺ - kalmomodulin – NFAT (nukleární faktor aktivovaných T buněk) může zvýšit citlivost rezistentních nádorových buněk k ATRA. K pozoruhodnému nálezu patří také zjištění, že během diferenciaci buněk monocytární řady dochází ke zvýšení exprese vimentinu a to zejména v buňkách se zvýšenou expresí RAR. RXR či c-Jun.

V další kapitole autor zmiňuje výsledky týkající se významu enzymatické aktivity katepsinu D pro migraci buněk, invazivitu i pro apoptózu indukovanou TRAIL (TNF-related apoptosis inducing ligand) a popisuje, že jedním z cílových proteinů v tomto procesu je Bcl-2. V souvislosti se studiem antiapoptotického účinku tohoto proteinu zjišťuje, že pro jeho funkci jsou důležité jeho posttranslační modifikace.

V části zabývající se nádorovým mikroprostředím se autor se spolupracovníky zaměřili na studium významu snížení hladiny extracelulární glukózy na cytotoxicitu chelačních činidel s afinitou k Cu a prokázali, že jejich účinek využíván například při léčbě neuroblastomů je možné potencovat snížením přísunu živin. Při studiu vlivu acidózy na cytotoxicitu inhibitoru alkoholové a aldehydové dehydrogenázy disulfiram zjistili, že během interakcí dochází ke změnám transportu Cu iontů a jejich akumulaci v nádorových buňkách, čímž se zvyšuje produkce ROS. Kyselé prostředí tento proces potencuje.

Práce zabývající se analýzou protinádorových účinků přírodní látky wedelolaktonu popisují dosud nepopsané mechanismy účinku této látky a odhalují některé faktory, které ovlivňují jeho cytotoxicitu.

Průběžně v každé kapitole autor dostatečně kriticky diskutuje dosažené výsledky z hlediska současné úrovně poznání a formuluje obecné závěry. Dokazuje tak nejen vynikající literární přehled, ale i schopnost analytického a současně syntetického myšlení, která by neměla chybět žádnému vědeckému pracovníkovi.

Poznámky a dotazy oponenta

Vysoce hodnotím, že práce obsahuje minimální počet překlepů a že byla napsána dobrou a srozumitelnou češtinou, snad s výjimkou bohužel velmi často používaných anglikanismů, jako je nesprávný tvar mezenchymální namísto mezenchymový, epiteliální namísto epitelový a podobně. Přesto bych měl několik drobných výtek, které nijak nesnižují vysoký standard habilitační práce. Domnívám se, že orientaci čtenáře by usnadnilo číslování použité literatury. Méně vhodné se rovněž zdá vysvětlení některých zkratk jen pomocí anglického ekvivalentu bez paralelního českého termínu a to i v případech, kdy termín je v české formě běžně používán. Rovněž seznam použitých zkratk by byl vhodnější, než rozepisování významu zkratk v závorce v některých případech.

Hodnocený text dle mého mínění splňuje rozsahem i obsahem požadavky kladené na habilitační práci. Dokazuje, že Mgr. Petr Beneš, PhD. je dobře připraveným odborníkem v oblasti molekulární biologie se širokým rozhledem a zkušenostmi.

Dotazy:

Jaké jsou možné praktické aplikace dosažených výsledků? Provádí se, nebo je plánována v ČR preklinická či klinická studie (s výjimkou již uváděné studie týkající se disulfiramu) využívající v habilitační práci uvedených poznatků v experimentální nebo praktické terapii nádorů?

Může účinek retinoidů na epitelové či mezenchymové buňky interferovat s účinkem steroidních hormonů?

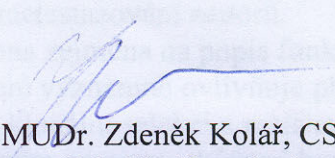
Závěr

Autorův pohled na studovanou problematiku je komplexní a fundovaný, je doložen výsledky experimentálního výzkumu a má potenciální medicínský význam. Celkově hodnotím habilitační práci vysoce pozitivně, jako velmi potřebný příspěvek k poznání vlivu buněčných proteinů a nádorového mikroprostředí na účinnost chemoterapeutik. Z práce vyplývá, že autor má hluboké znalosti a velké zkušenosti s uvedenou problematikou a projevuje mimořádnou metodickou erudici v náročné a specializované oblasti molekulární biologie a patologie. Předložený spis splňuje dle mého názoru všechny požadavky na habilitační práci, a proto lze ve smyslu ustanovení příslušného zákona a dalších předpisů doporučit VR PŘF MU udělení titulu

d o c e n t.

pro obor „Molekulární biologie a genetika“

V Olomouci 1. května 2014


Prof. MUDr. Zdeněk Kolář, CSc.
Ústav klinické a molekulární patologie a Ústav
molekulární a translační medicíny LF UP
Hněvotínská 3, 775 15 Olomouc