



Oponentský posudek dizertační práce

„Detekcia nových prediktorov mnohopočetnej liekovej rezistencie u nemalobunkových karcinómov pľúc s ohľadom na ich histogenézu“.

Autor: Mgr. Mária Janíková, Lékařská fakulta, Univerzita Palackého v Olomouci, Ústav klinické a molekulární patologie, Laboratoř molekulární patologie.

Studijní program: Lékařská biologie

Školitel: MUDr. et MVDr. Jozef Škarda, Ph.D. et Ph.D.

Oponent: prof. MUDr. Markéta Hermanová, Ph.D., I. patologicko-anatomický ústav, FN u sv. Anny v Brně, Lékařská fakulta, Masarykova univerzita

Obecná charakteristika práce a hodnocení publikačních výstupů:

Doktorská dizertační práce Mgr. Márie Janíkové zpracovává onkologickou problematiku, téma nemalobuněčného karcinomu plic (NSCLC). Stanovené cíle dizertační práce jsou jasně definované. Práce si klade za cíl identifikaci buněk nesoucích znaky nádorových kmenových buněk v NSCLC na základě společné exprese CD133 a nestinu a analýzu možné úlohy vybraných mikroRNA (miRNA) jako biomarkerů NSCLC. Členění dizertační práce je standardní. V úvodu je zpracována tematika NSCLC obecně, jsou uvedena klasifikační schémata NSCLC, stručně popsány současné terapeutické možnosti včetně biologické léčby. Je zpracován teoretický úvod do problematiky mnohočetné lékové rezistence, nádorových kmenových buněk a miRNA se zaměřením na úlohu miRNA v nádorech, jejich případné využití jako biomarkerů NSCLC či v terapii NSCLC. Soubor pacientů je dobře definován, metodické přístupy vhodně zvolené a popsané, velikost souboru umožňuje ve většině sledovaných položek validní statistické hodnocení získaných výsledků. Z uvedených výsledků vyplývá, že nebyla zjištěna statisticky významná korelace mezi expresí nestinu či CD133 a přežitím pacientů s NSCLS (délkou bezpříznakového přežití i celkového přežití). Buňky koexprimující CD133 a nestin byly identifikovány u 17 % pacientů, v podstatně nižší



frekvenci než buňky CD133 či nestin izolovaně pozitivní. Expres nestinu, jak vyplývá z části výsledků, je asociována s vyšším stádiem onemocnění a tvorbou metastáz.

Hladiny miR-205 byly signifikantně vyšší u pacientů s dlaždicobuněčnými karcinomy.

Onkogenní úloha miR-21 nebyla potvrzena, výsledky dizertační práce ukazují na možnou tumor-supresovou roli v případě miR-126 a miR-23b. Současně bylo zjištěno, že zvýšená exprese miR-23b je spojená s delším přežíváním pacientů. Na základě analýzy kombinované exprese miR-23b a LRP/MVP (lung resistance-related protein/major vault protein), jako proteinu zapojeného do mechanismů zodpovědných za mnohočetnou lékovou rezistenci, bylo zjištěno, že rizika úmrtí a/nebo progresu onemocnění pacientů se sníženou hladinou miR-23b stoupají s expresí LRP/MVP a klesají se zvyšováním hladiny miR-23b. Výsledková část je doplněna o kvalitní diskuzi k oběma zpracovávaným tématům.

Výsledky dizertační práce byly zpracovány v celkem 3 publikacích (z toho 2 již publikované v časopise s impact faktorem (IF), jedna práce t.č. v recenzním řízení). Mgr. Janíková je první autorkou dvou těchto prací, současně je i první autorkou přehledové práce publikované rovněž v časopise s IF. O kvalitě již publikovaných prací svědčí jejich citační ohlas čítající t.č. 39 citací ve Web of Science (WOS).

Mgr. Janíková je i spoluautorkou dvou dalších publikací, jedna publikována v časopise s IF (t.č. se 3 citacemi dle WOS, druhá v recenzním řízení).

Bohatý seznam citované literatury čítá 240 relevantních odkazů včetně recentních. Práce je doplněna o obsah se stránkováním, seznam zkratk a přehled publikací autora dizertační práce.

Formální úprava a jazyková úroveň práce:

Nejen po obsahové, ale i po formální stránce kvalitně zpracovaná dizertační práce, s odpovídající obrazovou dokumentací. Jazykovou úroveň práce mohu vzhledem k použité slovenštině posoudit pouze limitovaně, v práci se téměř nevyskytují překlepy.

Význam dizertační práce:

Dizertační práce zpracovává aktuální onkologickou problematiku a zaměřuje se na získání dat využitelných při vývoji cílených terapeutických postupů u pacientů s NSCLC. Identifikace nádorových buněk koexprimujících nestin a CD133 podporuje teorii nádorových kmenových



buněk (CSC) s potenciálem využití k detekci buněk tohoto fenotypu u pacientů s NSCLC. Zjištěná asociace miR-205 a dlaždicobuněčného karcinomu podporuje již dříve publikovaná data jiných autorů a nabízí možnost využití miR-205 jako pomocného diagnostického markeru. Práce ukázala i potenciální prognostický význam miR-23b v kombinaci s úrovní exprese LRP/MVP. Jak vyplývá z výše uvedeného, práce svými výsledky nepochybně přispěla k pokroku na poli individualizovaného přístupu k pacientů s NSCLC.

Připomínky a dotazy:

K práci nemám kritické připomínky. Autorce dizertační práce bych položila následující dotazy:

- V 17 % NSCLC jste identifikovali nádorové buňky koexprimující CD133 a nestin. Prováděli jste příslušné klinicko-patologické korelace? Bylo chování těchto nádorů statisticky významně odlišné od nádorů, u kterých CD133+/nestin+ nádorové buňky identifikovány nebyly?
- Jak si vysvětlujete resp. jak je v literatuře vysvětlována asociace miR-205 s dlaždicobuněčným karcinomem?

Závěr:

Předloženou dizertační práci hodnotím jako kvalitní, prokazující schopnost autora samostatně tvořivě vědecky pracovat, analyzovat a interpretovat dosažené výsledky, které byly publikované v recenzovaných periodických s impact faktorem a široce prezentovány na tuzemských i mezinárodních kongresech. Celková publikační aktivita autorky dizertační práce je adekvátní absolventovi doktorského studijního programu.

Práce splnila požadavky kladené na dizertační práci a doporučuji ji proto k obhajobě. Současně doporučuji, aby byl po úspěšné obhajobě autorovi dizertační práce udělen titul doktor ve zkratce Ph.D. dle § 47 Zákona o vysokých školách č. 111/98 Sb. .

V Brně dne 4. 5. 2015

Markéta Hermanová

OPONENTSKÝ POSUDEK DISERTAČNÍ PRÁCE

AUTOR: Mgr. Mária Janíková

NÁZEV PRÁCE: DETEKCIA NOVÝCH PREDIKTOROV MNOHOPOČETNEJ LIEKOVEJ REZISTENCIE U NEMALOBUNKOVÝCH KARCINOMOV PLÚC S OHĽADOM NA ICH HISTOGENÉZU.

a) Zhodnocení významu disertační práce pro obor

Problematika disertační práce „Detekcia nových prediktorov mnohopočetnej liekovej rezistencie u nemalobunkových karcinomov pľúc s ohľadom na ich histogenézu“ je témom veľmi aktuálnym. Vzhľadom k tomu, že obor lekárska biológia mimo iné skúma aj poznatky významné z hľadiska štúdia medicíny a budúcej klinickej praxe a tak i súčasne problematiku imunogenetiky v kombinácii s najnovšími poznatkami molekulárnej patológie, ktoré prinášajú veľmi zásadné informácie a nové pohľady na fungovanie genómu, mohli by výsledky tejto práce prispieť k porozumeniu problematiky ako mnohočetnej liekovej rezistencie (MDR), tak i nových biomarkerov se zaměřením na určenie správnej diagnózy, prognózy a predikcie nemalobunčných nádorov pľúc (NSCLC).

Téma odpovedá požiadavkám na disertačnú prácu. Rozbor bunčných i molekulárne genetických faktorov MDR rozširuje poznatky o jej vývoji a preto má veľký význam pre obor lekárskej biológie.

b) Vyjádření k postupu řešení problému, použitým metodám a splnění stanoveného cíle

Studentka doktorského štúdia použila k riešeniu problému mnohočetnej liekovej rezistencie (MDR) v liečbe karcinomu pľúc niekoľko metód. Pre identifikáciu nádorových kmenových buniek (CSC) využila veľmi vhodne imunohistochemickú vyšetrenie a vyšetrenie dvojí imunofluorescenciou protilátkami CD 133 a Nestin. Význam nově navrhovaných biomarkerov na poli mikróba (miRNA) stanovila pomocou kvantitatívnej polymerázovej reťazovej reakcie v reálnom čase (QPCR). Výsledky jednotlivých metód boli štatisticky analyzované pomocou softwaru SPSS (verzia 20.0) a programu R. Postup riešenia veľmi logicky naväzuje na úvodnú kapitolu shrnujúcu súčasný stav riešenej problematiky. Použité metódy odpovedajú zadanému cieľu práce.

Cíl práce byl rozčleněn do 2 fází:

První fáze práce byla věnována identifikaci buněk nesoucích znaky CSC v NSCLC na základě společné exprese známých markerů kmenových buněk CD133 a Nestinu. Druhá fáze se zabývá možnou úlohou vybraných miRNA jako biomarkerů NSCLC. Výsledky, které jsou velmi ilustrativně zdokumentovány v obrázcích, grafech a tabulkách, jsou shrnuty na 17 stranách a na dalších 7 stranách je podle jednotlivých fází cílů rozebrána diskuse.

c) Stanovisko k výsledkům disertační práce a k původnímu konkrétnímu přínosu předkladatele disertační práce

Disertační práce splnila ciele vytýčené autorom a jejé závery môžu byť použité ako podnet pre ďalšie metodiky pre určenie individuálnej odpovedavosti nádorových buniek karcinomu pľúc na liečbu.

Použitá literatura velmi důkladně dokresluje zvolenou problematiku a je použita v dostatečné míře. Z předloženého seznamu publikací je zřejmé, že autor se danou problematikou zabývá již velmi dlouho.

- d) Další vyjádření k uspořádanosti, přehlednosti, formální úpravě a jazykové úrovni disertační práce, vyjádření k publikacím studenta doktorského studia

Práce je uspořádaná do přehledných 10 kapitol, které jsou dále velmi přehledně rozpracovány do podkapitol. Formální úprava odpovídá disertační práci, včetně srozumitelně popsaných tabulek, grafů a fotodokumentace. Jazyková úroveň dokládá zkušenost studentky s vědeckou a výzkumnou prací. Použitá literatura velmi důkladně dokresluje zvolenou problematiku a je použita v dostatečné míře. Z předloženého seznamu publikací je zřejmé, že autorka se danou problematikou zabývá již velmi dlouho.

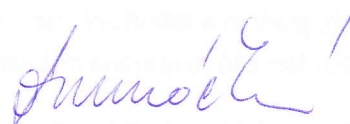
K disertační Mgr. Márii Janíkové - DETEKCIA NOVÝCH PREDIKTOROV MNOHOPOČETNEJ LIEKOVEJ REZISTENCIE U NEMALOBUNKOVÝCH KARCINOMOV PĹÚC S OHĹADOM NA ICH HISTOGENÉZU.
nemám žádné výhrady a podstatné připomínky.

- e) Závěr

Po prostudování práce mohu s potěšením konstatovat, že autorka si zvolil velmi aktuální téma. Podařilo se jí splnit vytčené cíle a podstatně přispět k problematice MDR nemalobuněčných karcinomů plic. Výsledky disertační práce jsou pozitivní a závěry z ní vyvozené jsou společenským přínosem. Práce Mgr. Márii Janíkové otevírá možnosti diagnostiky, prognózy a zpřesnění léčby nemalobuněčného karcinomu plic. Kvalitní dokumentace a rozsah literárních údajů vyčerpává problematiku řešeného problému a svědčí o velmi dobré orientaci doktorandky v řešené problematice, což je podtrhnuto její rozsáhlou publikační činností. Pečlivé zpracování a logický postup i přístup k řešení vytýčeného problému svědčí o zkušenosti autorky s vědeckou prací.

Ze všech těchto důvodů se domnívám, že předložená disertační práce Mgr. Márii Janíkové - DETEKCIA NOVÝCH PREDIKTOROV MNOHOPOČETNEJ LIEKOVEJ REZISTENCIE U NEMALOBUNKOVÝCH KARCINOMOV PĹÚC S OHĹADOM NA ICH HISTOGENÉZU splňuje podmínky stanovené v § 72 Zákona o vysokých školách č.111/1998 Sb. pro udělení akademického titulu doktor ve zkratce Ph.D.

V Ostravě 1.6.2015


doc. MUDr. Jana Dvořáková Ph.D.
Přednosta Ústavu patologie FNO Ostrava