



UNIVERZITA PALACKÉHO V OLMOUCI  
LÉKAŘSKÁ FAKULTA

Děkanát, tř. Svobody 8, 771 26 Olomouc, tel./fax: 585 632 063

V Olomouci 28. srpna 2015

**Zápis o konání obhajoby disertační práce v oboru Lékařská biologie**

**Mgr. Mária Janíková**, vědecká pracovnice oboru medicíny a farmacie Ústavu klinické a molekulární patologie LF UP a studentka prezenční formy doktorského studijního programu *Lékařská biologie* na LF UP v Olomouci.

Téma práce: „**Detekce nových prediktorů mnohočetné lékové rezistence u nemalobuněčných karcinomů plic s ohledem na jejich histogenezi**“

Obhajoba se konala v Olomouci dne 6. srpna 2015 v 11:00 hod.

**Komise:**

předseda: doc. RNDr. Vladimír Divoký, Ph.D. .... ✓

místopředseda: prof. RNDr. Mgr. Marie Jarošová CSc. .... ✓

členové: prof. MUDr. Markéta Hermanová, Ph.D. .... ✓

doc. MUDr. Jana Dvořáčková, Ph.D. .... *OMLOUČI*

Mgr. Kateřina Machová Poláková, Ph.D. .... *OMLOUČI*

prof. Ing. Miroslav Strnad, CSc., DSc. .... ✓

**Oponenti:** prof. MUDr. Markéta Hermanová, Ph.D. .... ✓

I. Patologicko-anatomický ústav FN u sv. Anny v Brně

doc. MUDr. Jana Dvořáčková, Ph.D. .... *OMLOUČI*

Ústav patologie OU v Ostravě

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

Předseda komise přednesl stručnou charakteristiku uchazeče, hodnocení školitele a vedoucího školicího pracoviště. Poté uchazeč vyložil podstatný obsah své disertace. Oponenti přednesli své posudky. Uchazeč odpověděl na připomínky a dotazy oponentů.

Ve vědecké rozpravě vystoupili: viz příloha – zápis o diskusi.

Hlasování se účastnilo ....<sup>4</sup> členů komise. Kladně hlasovalo ....<sup>4</sup> členů, záporně .....<sup>0</sup> členů, neplatných lístků bylo odevzdáno .....<sup>0</sup>.

**Usnesení:**

Přítomní členové komise tajným hlasováním rozhodli, že **Mgr. Mária Janíková** obhájila disertační práci a doporučili udělení akademického titulu doktor ve zkratce Ph.D. dle § 47 Zákona o vysokých školách č. 111/98 Sb.

.....  
doc. RNDr. Vladimír Divoký, Ph.D.  
předseda komise

# Zápis z obhajoby

*Mgr. Mária Janíková*

6.8.2015

## Otázky oponentov:

prof. MUDr. Markéta Hermanová, Ph.D.

1. „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?“

„Vzhľadom k tomu, že cieľom tejto štúdie bola identifikácia samotných CD133<sup>+</sup>/Nestin<sup>+</sup> buniek, ktoré sa vyskytovali veľmi ojedinele (1-2 bunky na rez), klinicko-patologické korelácie vykonávané neboli. Je ale naplánované rozšírenie súboru vyšetovaných pacientov, a tiež analýza celých rezov z dôvodu väčšej vyšetovanej plochy než z TMA (tkanivová mikroerej) rezov. Vďaka tomu bude zvýšená možnosť záchytu pravdepodobných kmeňových CD133<sup>+</sup>/Nestin<sup>+</sup> buniek.“

2. „Jak si vysvětlujete resp. jak je v literatuře vysvětlována asociace miR-205 s dlaždicobuněčným karcinomem?“

„Dlaždicobunkový, čiže spinocelulárny karcinóm (SCC) je charakterizovaný zvýšenou expresiou proteínu p63. Táto molekula sa v súčasnosti využíva aj ako diagnostický marker na odlíšenie dlaždicobunkového karcinómu od ostatných histologických podtypov nemalobunkových karcinómov pľúc. Gén pre tento proteín, označovaný *TP63*, je lokalizovaný na 3. chromozóme, v oblasti 3q26-29, ktorá býva u SCC často amplifikovaná, resp. dochádza k zvýšenej expresii génov z danej oblasti. Proteín p63 slúži ako transkripčný faktor usmerňujúci diferenciáciu skvamózneho (dlaždicobunkového) epitelu. Tento transkripčný faktor sa viaže na promotórovú oblasť génu *MIR205* ležiaceho na 1. chromozóme, čím dochádza k zvýšenej expresii miR-205.“

## Diskusia:

Doc. RNDr. Vladimír Divoký, Ph.D.

*„Detekovali jste cancer stem cells u poměrně malého procenta pacientů. Je přijímáno, že kombinace markerů, co jste použili, je charakteristická pro cancer stem cells? Souhlasí procento výskytu s literaturou?“*

„Ja začnem frekvenciou výskytu. Sú štúdie, ktoré sledovali frekvencie výskytu nádorových kmeňových buniek (CSC) v nádoroch, ale vzhľadom k tomu, že sme použili tkanivové mikroereje, je možné, že ten záchyt nebol stopercentný. V prípade využitia väčšej vyšetrovanej plochy, budú mať tieto výsledky väčšiu váhu.“

Čo sa týka kombinácie CD133 a Nestinu, tak CD133 sme zvolili z toho dôvodu, že CD133 je vo všeobecnosti považovaný za marker kmeňových buniek a Nestin bol vybraný z toho dôvodu, že karcinómy pľúc veľmi často metastazujú do mozgu. Práve spoločná expresia CD133 a Nestinu sa v súčasnosti využíva pri izolácii nádorových kmeňových buniek glioblastómu.“

Prof. RNDr. Mgr. Marie Jarošová, CSc.

*„Měla jste tam napsáno, že některé mikroRNA mají funkci tumor supresorů. Je známo, že oblast, ve které je lokalizován tumor supresorový gen pro RNA je u tohoto nádoru deletovaná, nebo nějakým způsobem změněná?“*

„Áno. Je známe, že gény pre tumor supresory, ale aj pre onkogény, bývajú často lokalizované vo fragilných miestach, ktoré sú počas karcinogenézy často zmenené. V prípade tumor supresorov dochádza často aj k metylácii v promotoroch jednotlivých génov pre miRNA.“

*„Dochází taky ke změnám, které jsou detekovatelné na úrovni cytogenetiky?“*

„Áno. Spomínaná prestavba na 3. chromozóme je v oblasti génu *p63*, ale taktiež bývajú podobné prestavby aj v oblastiach génov pre miRNA. K zvýšenej expresii miR-21 dochádza ale vďaka amplifikácii génu *c-MYC*, avšak myslím, že gén pre miR-23b je v takom lokuse, kde závisí od typu tkaniva, k akým prestavbám dôjde. Samozrejme, hematologické malignity sú lepšie preskúmané, čo sa tejto oblasti týka.“

*„Obecně, vyšetřují se u těchto karcinomů i nějaké FISHe? Např. p53?“*

prof. MUDr. Markéta Hermanová, Ph.D.

*„Rutinně diagnosticky ne, protože pro nás je nutné v první řadě oddiferencovat malobuněčný a nemalobuněčný karcinom, pak skvamocelulární karcinom, adenokarcinom, ...“*

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

*„Detekují se přestavby v ALK genu.“*

Ja:

„A ešte amplifikácia *EGFR* génu.“



Doc. RNDr. Vladimír Divoký, Ph.D.

„Měli jste korelaci mutačního stavu EGFR kinázy a těch vašich miRNA?“

„Toto sme nerobili, pretože sme vyšetrovali pacientov z rokov 1996-2000, a vtedy sa ešte cieleňá liečba nevyužívala, takže EGFR status nemali vyšetrený.“

„Jo, takže to byla retrospektivní studie?“

„Áno, bola to retrospektívna štúdia.“

„Ty mutace v EGFR se ale dají vyšetřit? A to jste neplánovali? Jestli by to pomohlo identifikovat, jestli nemocný bude nebo nebude odpovídat na tuto léčbu?“

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

„Plánujeme analyzovat miRNA u těch pacientů, kteří mají známý EGFR status. V literatuře jsou údaje, že některé miRNA korelují s odpovědí na terapii.“

Doc. RNDr. Vladimír Divoký, Ph.D.

„Takže v tom pokračujete i nadále a hledáte vzorky z novějšího data?“

„Áno, momentálne sa vyberá nový súbor pacientov, ktorým sa podáva súčasná terapia, aby sa mohla ďalšia štúdia prispôbiť súčasnej praxi.“

„A jsou teď inhibitory EGFR schváleny v I. linii léčby, nebo ještě ne?“

„Myslím, že áno. U pacientov vo IV. klinickom štádiu.“

prof. MUDr. Markéta Hermanová, Ph.D.

„Jak jste přistupovali k hodnocení imuna CD133 – membránová pozitivita, cytoplazmatická pozitivita, atd.? Protože my jsme s tím mnohdy bojovali...“

„Imunohistochemiu hodnotil pán doktor Škarda, pretože ja nie som patologička. Ale myslím, že vzhľadom k tomu, že expresia nebola moc výrazná, tak sa to nerozdeľovalo.“

prof. Ing. Miroslav Strnad, CSc., DSc.

„Tu práci, co máte v seznamu publikací v recenzi už vzali?“

„Tá práca je momentálne v recenznom konaní v inom časopise – Neoplasma. Teraz na nej vykonávame revízie a čoskoro ju odošleme upravenú späť. V danom zozname ale nie je spomenutá ďalšia publikácia o miR-21, miR-126 a miR-205, ktorá bola medzičasom prijatá do zahraničného recenzovaného časopisu.“