

POSUDEK OPONENTA HABILITAČNÍ PRÁCE

Masarykova univerzita

Uchazeč

Habilitační práce

Oponent

Pracoviště oponenta,
instituce

RNDr. Petr Vaňhara, Ph.D.

Tissue plasticity in cancer, stress and aging

Počet a druh příloh: 1 /

Doc. MUDr. Mgr. Zbyněk Tonar, Ph.D.

Univerzita Karlova, Lékařská fakulta v Plzni, Ústav
histologie a embryologie

Uchazeč předložil práci o 282 stranách. Jejím základem je komentovaný soubor 18 publikací, které byly již oponovány, z toho se jedná o 16 článků vyšších v časopisech s IF a dvě kapitoly v monografiích.

Aktuálnost tématu: Práce se zabývá změnami indukovanými stresem u normálních i nádorových buněk, a to na molekulární a buněčné úrovni. Rovněž se zabývá vývojem a testováním bioanalytických metod pro porovnávání buněčných a tkáňových vzorků pomocí hmotnostní spektrometrie. Téma považují nejen za aktuální, ale velmi nosné i do budoucna.

Přístup k řešení: V úvodu uchazeč vytyčuje dvě výzkumné osy: 1) molekulární regulaci morfologické a funkční odpovědi epitelových buněk v reakci na stresory, v nádorové přeměně a během stárnutí; 2) vývoj metod pro typizaci buněčných a tkáňových vzorků na základě jejich hmotnostních spekter analyzovaných pomocí neuronových sítí. K oběma osám formuluje jednotlivé výzkumné cíle, které ve výsledkové části postupně zodpovídá, řeší a diskutuje, přičemž se opírá o soubor 18 již vyšších publikací. V závěrech pak shrnuje hlavní zjištění a formuluje výhledy pro další práci.

Použitá metodologie: Autor aktivně využívá celou řadu metod, u všech na úrovni současného stavu poznání, konkrétně pak morfologii na buněčné a histologické úrovni, imunohistochemii, lektinovou histochemii, transmisní elektronovou mikroskopii, hodnocení buněčné proliferace, migrace a adheze, analýzu cytotoxicity, cytometrii, molekulární charakteristiku buněčných fenotypů včetně kvantitativní real-time PCR, Western blotu, hodnocení úrovně exprese genů a jejich epigenetických regulací a další. Využívá hmotnostní spektrometrii s využitím ionizace a desorpce laserem za přítomnosti matrice a s detekcí doby letu (tzv. MALDI-TOF). Rozvíjí metody neuronových sítí pro třídění dat z hmotnostní spektrometrie. Každá ze souboru publikací sama o sobě obsahuje podrobnou metodickou část. Jednotlivé metody na sebe v konkrétních publikacích velmi dobře navazují a vzájemně se doplňují. Jsou velmi silným pilířem celého souboru prací. Popis metod umožňuje opakovatelnost experimentální práce.

Splnění cílů: K prioritním zjištěním souboru prací patří zejména následující:

1. Morfologie povrchového epitelu vaječnicků se během in vitro stárnutí posouvá k mezenchymálnímu fenotypu, přičemž jeví abnormality v ultrastruktuře endoplazmatického retikula. Reakce endoplazmatického retikula na stresory zvýrazňuje jeho náchylnost ke změnám spojeným se stárnutím, naopak zmírnění nároků na ER tyto změny kompenzuje.
2. Gen TUSC3 je tumor supresorovým genem spřaženým s funkcí ER a s N-glykosylací. Umlčení tohoto genu karcinomu vaječnicku a prostaty zlepšuje přežívání buněk zmírněním stresu ER. Ztráta TUSC3 navozuje u myších modelů agresivní nádorový

fenotyp. Downregulace TUSC3 je spojena s méně diferencovanými nádory prostaty a vaječníku; hypermetylace promotoru TUSC3 predikuje zhoršenou prognózu u pacientek s nádory vaječníku.

3. Hmotnostní spektrometrie umožňuje pokročilé profilování buněk a tkání. Ve spojení s neuronovými sítěmi je nástrojem k posouzení heterogenity tkáňových vzorků.

Cíle proto považuji za prokazatelně splněné.

Kvalita, správnost a původnost dosažených výsledků: Vzhledem k validní metodice, vysoké úrovni dokumentace a již proběhlým recenzím u jednotlivých publikací nemám o správnosti pochybnost. Ze souboru 18 publikací jich plných 8 bylo publikováno v časopisech 1. kvartilu příslušných kategorií WoS a další 4 ve 2. kvartilu, přičemž jde o prestižní časopisy z oblasti onkologie, buněčné a vývojové biologie či tkáňového inženýrství. Uchazeč je prvním autorem u 5 publikací (ve dvou případech z toho jde o sdílené první autorství) a korespondujícím autorem na jiné nežli 1. pozici u dalších 6. Jeho podíl na manuskriptech je ve všech případech zcela zásadní a je v habilitaci podrobně a výslovně doložen. Výsledky proto považuji ve světle současného poznání za kvalitní, správné a původní.

Uplatnitelnost výsledků pro rozvoj oboru: Z hlediska metodického považuji předložené práce za určitý předobraz dalšího rozvoje funkční histologie jako oboru. Z hlediska výsledků jde o prioritní zjištění, která umožňují formulaci nových testovatelných hypotéz.

Uplatnitelnost výsledků v praxi: Příspěvek k objasnění role endoplazmatického retikula v epitel-mezenchymální přeměně, v nádorové přeměně, ve stárnutí a v reakci na stresory nabízí celou řadu potenciálních praktických využití. Druhý pilíř práce, tj. fenotypizace buněčných a tkáňových kultur pomocí hmotnostní spektrometrie je dle doložených publikací již prakticky využitelná např. pro kontrolu kvality buněčných kultur.

Formální úprava a jazyková úroveň: Úprava je profesionální, práce je velmi přehledná, čtivá, s propracovanými návaznostmi, překlady nenacházím. Je psána výstižnou a dobře srozumitelnou angličtinou. Jen zcela výjimečně je opomenuta časová souslednost (např. v popisu Fig. 3 na str. 16).

Dotazy oponenta k obhajobě habilitační práce:

1. Která ze zjištění považujete za natolik obecná a prověřená in vivo, že byste doporučil obohatit o ně pregraduální výuku lékařství? Například úlohu endoplazmatického retikula v buněčném stresu či stárnutí?
2. Doporučil byste laserovou mikrodisekci k přesnějšímu výběru buněk pro tkáňové profilování pomocí MALDI-TOF? Jsou v návaznosti těchto metod nějaké praktické obtíže?
3. Kolik vrstev a uzlů neuronové sítě je dle dosavadních zkušeností zapotřebí k tomu, aby rozlišila buněčné fenotypy na základě MS způsobem srovnatelným se zkušeným hodnotitelem?
4. Bude možné přiřadit spektrům získaným z MS morfologický či imunohistochemický korelát, na který jsou zvyklí pracovníci v oboru histologie či patologie? Pokud ano, do jaké míry odhadujete, že budou tyto různé obrazy tkáňových vzorků zastupitelné či komplementární?
5. Zejména u rozsáhlejšího vzorkování se v patologii ukazuje, že mnoho typů nádorů je tvořeno heterogenními tkáňovými populacemi. Jak v tomto případě nejefektivněji využít Vámi vyvíjené profilování vzorků pomocí MALDI-TOF?

Závěr

Habilitační práce RNDr. Petra Vaňhary, Ph.D., s názvem „Tissue plasticity in cancer, stress and aging“ **splňuje** požadavky standardně kladené na habilitační práce v oboru Anatomie, histologie a embryologie.

Brno dne 30.4.2019

.....
podpis