

Posudek oponenta habilitační práce

Masarykova univerzita	
Fakulta	Přírodovědecká
Obor řízení	Molekulární biologie a genetika
Uchazeč	<i>RNDr. Jakub Neradil, Ph.D.</i>
Pracoviště uchazeče	Ústav experimentální biologie, Přírodovědecká fakulta MU
Habilitační práce	<i>Molekulární podstata nových terapeutických přístupů v léčbě solidních nádorů dětského věku</i>
Oponent	<i>prof. PharmDr. Emil Rudolf, Ph.D.</i>
Pracoviště oponenta	Ústav lékařské biologie a genetiky, Lékařská fakulta v Hradci Králové, Karlova Univerzita

Text posudku (rozsah dle zvážení oponenta) ...

Předložená habilitační práce se věnuje tématu nádorové biologie vybraných solidních malignit dětského věku, a to zejména z pohledu klasických a moderních přístupů při jejich léčbě. Práce vznikla v rámci výzkumných aktivit Laboratoře nádorové biologie (pracoviště předkladatele) a ve spolupráci s jinými partnerskými pracovišti (např. Mezinárodní centrum klinického výzkumu Fakultní nemocnice u sv. Anny, Regionální centrum aplikované a molekulární onkologie Masarykova onkologického pavilonu, Středoevropský technologický institut atd.). Jejím hlavním cílem a důvodem vzniku je snaha předkladatele o komplexnější a přesnější pochopení buněčně-molekulárních charakteristik vybraných solidních nádorů dětského věku, a to zejména v souvislosti s jejich vznikem, vývojem a odpovědností na současné možnosti klinické intervence – protinádorové léčby. V tomto ohledu je tato práce přínosná i tím, že kombinuje experimentální přístupy na různých modelech, a to včetně klinických, čímž zvyšuje hodnotu předkládaných výsledků s ohledem na jejich praktické využití při hledání optimálních způsobů léčby.

Předkládaná habilitační práce je prezentována jako soubor výsledků, které autor rozčlenil do čtyřech oblastí vztahujících se k současným možnostem léčby nádorových onemocnění, a to zejména solidních nádorů dětského věku. V první části je pozornost věnována klasické či tzv. konvenční chemoterapii zde představované inhibitory folátového metabolismu metotrexátem. Kromě dobře prozkoumaného cytotoxického či cytostatického účinku tohoto léčiva jsou zde také nově dokumentovány (a předkladatelem habilitační práce i experimentálně ověřeny) jeho schopnosti vyvolat u exponovaných nádorových buněk diferenciaci prostřednictvím ovlivnění exprese příslušných genů. Kromě těchto účinků se dále ukazuje, že metotrexát může působit i na epigenetické buněčné programy (např. prostřednictvím metylace DNA či inhibice histonacetyláz), glyoxalázový systém a redoxní rovnováhu, což naznačuje potenciálně nové možnosti jeho dalšího využití v protinádorové terapii.

V druhé části je představen historicky novější protinádorový terapeutický přístup spočívající v reaktivaci endogenního diferenciačního programu nádorových buněk s cílenou následnou ztrátou jejich nádorového fenotypu. Jako induktory diferenciace se využívají nejčastěji deriváty vitamínu A (retinoidy např. ATRA), ale i deriváty vitamínu D (deltanoidy) či antagonisté PPAR γ . Velká pozornost je na tomto místě věnována popisu molekulárních účinků zejména retinoidů a podrobnému rozboru dosažených výsledků s těmito látkami jak

v experimentálních podmínkách *in vitro* tak v klinických studiích. Na základě klinickými studii zjištěné limitující toxicity monoterapie retinoidy je dále zmíněna možnost kombinační terapie retinoidů s inhibitory enzymů epigeneticky regulujících genovou expresi. Předkladatel se kombinační terapii věnuje i v další části práce, kdy prezentuje vlastní výsledky expozice retinoidu ATRA v kombinaci s inhibitem COX-2 celecoxibem na diferenční markery několika nádorových linií odvozených ze solidních nádorů dětských pacientů. Předkládatel získaná a publikovaná data jsou jistě zajímavá, i když pouze v modelu *in vitro*. Zde by pak také mělo v další fázi dojít k validaci získaných údajů na rozsáhlejších souborech jednak etablovaných buněčných linií a jednak liniích i vzorcích získaných *ad hoc* od pacientů.

Třetí část předkládané habilitační práce se zabývá v současné době velmi moderní cílenou léčbou, která je představována jako součást tzv. personalizované medicíny. Předkladatel se velmi podrobně soustředí na jednu významnou skupinu buněčných cílů, a to na receptorové tyrozinkinázy a jimi aktivované signální dráhy. Pomineme-li zevrubný a obsažný teoretický úvod, kde je v krátkosti, ale velmi obsažně popsána problematika struktury a funkce těchto receptorových kináz, a to včetně jejich onkogenní úlohy, deregulace signalizace u vybraných solidních nádorů dětského věku a možností léčby, hlavní význam a přínos práce předkládatel v této části vidím v téměř pionýrském využití tzv. proteinových arrays pro detekce fosforylačních signálních proteinů coby potenciálních cílů personalizované léčby dětí. Jako důkaz prospěšnosti tohoto přístupu jsou uváděny dvě publikované případové studie, kde využití detekce fosforylačních profilů RTK a s nimi spojených proteinů přispělo k výběru vhodného cíleného léčiva a následně pozitivní terapeutické odpovědi se současným snížením nežádoucích účinků existující léčby.

V závěrečné části předkládané práce je představena a diskutována problematika tzv. nádorových kmenových buněk. Existence populací těchto buněk v mase nádoru představuje pro mnohé vědce klíč a zároveň vysvětlení specifického chování nádoru, vzniku chemorezistence i jeho schopnosti invadovat a metastazovat. Nádorové kmenové buňky, jejich identifikace a lokalizace v nádorech a liniích odvozených z nádorů zjevně patří mezi významné vědecké zájmy předkládatel. Je to totiž patrné i z dokladovaného počtu publikovaných prací na toto téma. Identifikace nádorových kmenových buněk, které lze v mnoha případech dosáhnout i pomocí expresního profilování vybraných buněčných genů/povrchových markerů, by následně měla posloužit k jejich úspěšnějšímu zacílení v rámci protinádorové léčby a v konečném důsledku ke zvýšení délky přežívání či ke kompletnímu vyléčení.

Z formálního hlediska nemám k práci téměř žádné připomínky, snad pouze zanedbatelný počet chyb typu „překlepů“. Z hlediska odborného bych chtěl vyzdvihnout prezentované výsledky, které dokazují značnou experimentální erudici předkládatel práce, a to včetně jeho schopností interpretovat získaná data v širším kontextu vlastní problematiky, ale i v rámci jejich potenciálního klinického využití. Předkládané výsledky mají tedy vysokou vědeckou úroveň a zároveň jednu další přidanou hodnotu. Týkají se totiž pediatrických nádorů, které jsou často histologicky odlišné od typově stejných nádorů adultních a vyvíjejí se v organismu, jehož reakce na léčbu je potenciálně odlišná též. Omezený počet klinických studií u onkologických dětských pacientů činí tuto problematiku také daleko méně přehlednou, a proto každý nový poznatek v této oblasti je dvojnásob cenný – pro poznání specifické problematiky nádorů u dětí a jako východisko pro zpřesnění našich znalostí u nádorů dospělé populace.

Dotazy oponenta k obhajobě habilitační práce (počet dotazů dle zvážení oponenta) ...

- 1) S ohledem na nádorové kmenové buňky se dnes stále vedou diskuze o tom, zda je to obecně platný identifikovatelný element všech maligních nádorů anebo pouze některých. Jaký je současný stav poznání, byly tyto CSC identifikovány opravdu o všech typech maligních nádorů?
- 2) Je možné se domnívat, že CSC populace může být identifikována pouze na základě profilování markerů (genů, antigenů) bez následné confirmace jejich iniciačního a rekapitulačního nádorového potenciálu *in vivo*?

Závěr

Habilitační práce Jakuba Neradila “Molekulární podstata nových terapeutických přístupů v léčbě solidních nádorů dětského věku” *splňuje – nespňuje* požadavky standardně kladené na habilitační práce v oboru Molekulární biologie a genetika.

V Brně dne 31.7. 2017

ANOTACE POSUDKU Oponenta Habilitační práce

Předložená habilitační práce se věnuje tématu nádorové biologie vybraných solidních malignit dětského věku, a to zejména z pohledu klasických a moderních přístupů při jejich léčbě. Jejím cílem přesnější pochopení buněčně-molekulárních charakteristik vybraných solidních nádorů dětského věku, a to zejména v souvislosti s jejich vznikem, vývojem a odpovědovostí na současné možnosti klinické intervence – protinádorové léčby. V tomto ohledu je tato práce přínosná i tím, že kombinuje experimentální přístupy na různých modelech, a to včetně klinických, čímž zvyšuje hodnotu předkládaných výsledků s ohledem na jejich praktické využití při hledání optimálních způsobů léčby.

Práce je prezentována jako soubor výsledků, které autor rozčlenil do čtyřech oblastí vztahujících se k současným možnostem léčby solidních nádorů dětského věku. Z formálního hlediska nemám k práci téměř žádné připomínky, snad pouze zanedbatelný počet chyb typu „překlepů“. Z hlediska odborného bych chtěl vyzdvihnout prezentované výsledky, které dokazují značnou experimentální erudici předkladatele práce, a to včetně jeho schopností interpretovat získaná data v širším kontextu vlastní problematiky, ale i v rámci jejich potenciálního klinického využití. Předkládané výsledky mají tedy vysokou vědeckou úroveň a zároveň jednu další přidanou hodnotu. Týkají se totiž pediatrických nádorů, které jsou často histologicky odlišné od typově stejných nádorů adultních a vyvíjejí se v organismu, jehož reakce na léčbu je potenciálně odlišná též. Omezený počet klinických studií u onkologických dětských pacientů činí tuto problematiku také daleko méně přehlednou, a proto každý nový poznatek v této oblasti je dvojnásob cenný – pro poznání specifické problematiky nádorů u dětí a jako východisko pro zpřesnění našich znalostí u nádorů dospělé populace.