



Lékařská fakulta  
Univerzity Palackého  
v Olomouci

V Olomouci, dne 05. 09. 2023

Honorabilis

**doc. MUDr. Eva Froňková, Ph.D.**

koordinátor oborové rady Molekulární a buněčná biologie, genetika a virologie pro 2. LF  
CLIP Genomika Klinika dětské hematologie a onkologie  
2. LF UK a FN Motol

**Věc:** Oponentský posudek disertační práce Dr. Natividad Alquezar Artieda

**Název:** Cancer metabolism and its role in the sensitivity of leukemic cells to L-asparaginase.

**Studijní program:** Doctoral study program: Molecular and Cellular Biology, Genetics and Virology

**Vedoucí práce:** RNDr. Júlia Starková, PhD, Klinika dětské hematologie a onkologie 2. LF UK

Práce je zpracována v anglickém jazyce jako komentovaný soubor prací. Vlastní text disertační práce má 57 stran. Zdroje tvoří více než 220 literárních odkazů.

Studentka je první autorkou 2 prací (Blood Adv, Blood) a spoluautorkou dalších tří (Blood, Scientific Reports, BMC Cancer) které byly všechny publikovány za poslední 4 roky a vztahují se k tématu disertační práce. Práce byly dle databáze WOS dosud citovány 15x (s vyloučením autocitací).

Struktura dizertační práce zahrnuje podrobný teoretický úvod, cíle práce, popis souboru a použitou metodiku, popis dosažených výsledků, diskusi a závěry. Práce je na vysoké jazykové úrovni a



formální úprava textu je kvalitní. Publikace je bohatě obrazově dokumentována a hypotézy i dosažené závěry jsou podpořeny značným množstvím odkazů na odbornou literaturu.

### **Posudek práce:**

#### **A. Aktuálnost tématu**

Téma práce je aktuální. Výzkum mechanismu účinků asparaginázy, případně mechanismu vzniku rezistence leukemických buněk má zásadní význam pro budoucí pokrok v terapii lymfoblastické leukémie.

#### **B. Cíle práce:**

Autorka si vytyčila celkem čtyři výzkumné cíle, a to:

##### **(1) Explore the pro-survival metabolic processes of leukemic cells upon ASNase treatment in the BM microenvironment.**

In the main project, they have elucidated the metabolic mechanism by which MSCs increase the survival of leukemic cells. Using a BM model, we have demonstrated that MSCs restore the biosynthetic pathways of leukemia cells after ASNase treatment. The restored pathway sustained the leukemic cells' survival, which retrieved the intrinsic resistant mechanisms in leukemic cells. The latter mechanism counteracts the cytotoxicity of the drug.

##### **(2) Study of the basal metabolic profile of leukemic cells in the cellular response to ASNase treatment.**

In this investigation, they explored the link between the baseline metabolic profile and the responsiveness to ASNase therapy in cases of acute leukemia. They evaluated the metabolic profile by examining parameters related to glycolysis, mitochondrial respiration activity, and MMP levels in 19 leukemic cell lines as well as 26 primary cells derived from patients with both ALL and AML. There was found a robust association between increased glycolytic activity and reduced



sensitivity to ASNase. Furthermore, we established a correlation between diminished sensitivity to ASNase and heightened ATP-linked respiration along with basal MMP levels.

### **(3) Investigate PTEN mutations or aberrant PI3K/Akt pathway in T-ALL in the ASNase sensitivity and glucose metabolism.**

The primary emphasis of this research was directed toward understanding the relationship among PTEN deletion, glucose metabolism, and the responsiveness of T-ALL to ASNase therapy. T-ALL cases exhibiting reduced sensitivity to ASNase exhibited elevated glycolysis, driven by the abnormal activation of the PI3K/Akt pathway. We observed the functional loss of PTEN, a negative regulator of the PI3K/Akt pathway, in T-ALL cells resistant to ASNase. Employing pharmacological inhibition of Akt kinase amplified sensitivity to ASNase and concurrently suppressed glycolytic flux.

### **(4) Characterize the role of metabolic rewiring in malignant transformation driven by mutated JAK2 kinases identified in BCR-ABL-like ALL subgroup.**

In this research, we examined the changes in metabolism during the development of leukemia brought about by JAK2 translocations involving various fusion partners. Our findings illustrated that these translocations, which altered JAK/STAT signaling, exhibited distinct metabolic characteristics. Consequently, we validated the existence of metabolic diversity within leukemia subcategories, suggesting the presence of distinct metabolic susceptibilities.

**C. Metody.** Použité metody jsou standardní, autorka detailně popisuje laboratorní postup přípravy – krok za krokem, a to včetně přístrojového a softwarového vybavení.

**D. Výsledky** práce přinášejí nové poznatky vysvětlující metabolický mechanismus leukemických buněk, kterým MSC zvyšují přežití leukemických buněk. Dále apk pomocí modelu BM jsme prokázali, že MSC obnovují biosyntetické dráhy leukemických buněk po léčbě ASNázou. Studie ozřejmuje význam mutace PTEN nebo abnormalitu dráhy PI3K/Akt v T-ALL v citlivosti na léčbu



ASNázou a metabolismu glukózy. Charakterizujte roli metabolické přestavby při maligním přeměňování způsobeném mutovanými kinázami JAK2 identifikovanými v podskupině BCR-ABL-like ALL.

**E.** Výše uvedená zjištění mají **nesporný význam pro rozvoj** hemato-onkolgie. Objasňují mechanismus účinku zásadního cytostatika i mechanism vzniku rezistence leukemických buněk a nabízejí mnoho translačních výstupů do klinické praxe.

Práce **splnila** ve všech bodech vytyčené **cíle**.

#### **F. Připomínky a dotazy na disertanta:**

Questions:

1. In your thesis, you mentioned limitations such as the lack of information on Asn transporters and the bias in selecting patients for primary cell samples. Could you elaborate on how addressing these limitations might impact the understanding of leukemia chemotherapy and potential future research directions?
2. Your research highlights the role of glycolytic flux and the PI3K/Akt pathway in the sensitivity of T-ALL to ASNase treatment. Can you discuss the clinical implications of these findings and how they might inform personalized treatment strategies for leukemia patients with specific metabolic profiles?
3. In your thesis, you discuss the metabolic heterogeneity within leukemia subtypes, particularly in the context of JAK2 translocations with different fusion partners. How might this knowledge contribute to the development of targeted therapies for specific subgroups of leukemia patients, and what future research avenues do you foresee in this area of stud



Lékařská fakulta  
Univerzity Palackého  
v Olomouci

**G. Závěr posudku:** práce formálně, věcně i odborně zcela odpovídá požadavkům na vypracování dizertační práce v daném oboru a studentka dostatečně prokázala své tvůrčí schopnosti. Práci proto **doporučuji v souladu s §47 VŠ zákona č. 111/98 Sb. ve znění pozdějších předpisů, k obhajobě.**

**Conclusion of the assessment: The thesis fully complies with the formal, substantive, and professional requirements for the preparation of a dissertation in the given field, and the student has sufficiently demonstrated her creative abilities. Therefore, I recommend it for defense in accordance with Section 47 of the Higher Education Act No. 111/98 Coll., as amended.**

**prof. MUDr. Vít Procházka, Ph.D.**

oponent dizertační práce

Hemato-onkologická klinika LF UP a FN Olomouc