



UNIVERZITA KARLOVA  
Přírodovědecká fakulta  
Katedra biochemie

## Posudek na disertační práci Mgr. Alžběty Spálenkové

Posuzovaná disertační práce Mgr. Alžběty Spálenkové (roz. Kloudové), nazvaná „**Úloha signální dráhy oxysterolů v rozvoji solidních nádorů**“, je experimentální studie založená na třech prvoautorských publikacích disertantky uveřejněných v prestižních mezinárodních periodících s impaktním faktorem. Mgr. Spálenková je spoluautorkou celkem 9 publikací uvedených v WOS, z nichž dvě jsou přehledové články.

Jednotící myšlenkou předkládané práce, která je sepsána v českém jazyce, je komplexní problematika úlohy oxysterolů u karcinomu prsu. Tyto oxo- a hydroxyderiváty cholesterolu jsou v centru vědeckého zájmu již řadu let, protože se jedná o biologicky aktivní sloučeniny, jejichž hladiny často korelují s řadou patologických stavů organismu a mohou tak být využity jako diagnostické či prognostické markery. Práce je předepsaným způsobem členěna a obsahuje všechny závazné oddíly. Součástí práce jsou též plné texty pěti relevantních článků disertantky.

Teoretická část práce, která vychází z dvou přehledových článků autorky, logicky setříděnými informacemi uvádí čtenáře do problematiky funkce oxysterolů, především z pohledu jejich fyziologického významu a role v patogenezi řady onemocnění, včetně nádorových. Dále se disertantka soustřeďuje na úlohu oxysterolů v procesech buněčné proliferace, apoptózy, migrace buněk, aktivity imunitních buněk a na možný vliv oxysterolů na účinnost některých protinádorových léčiv. Závěrem jsou probrány oxysteroly, které souvisí s prognózou stavu u onkologických pacientů. Po této úvodní části práce následují přehledně sepsané cíle práce, v nichž autorka přesně formuluje a zdůvodňuje jednotlivé dílčí úkoly. Na tento oddíl navazuje metodická část práce, kde jsou shrnuty základní materiály a experimentální přístupy. V některých případech ale schází citace článků, z nichž použité techniky vycházejí. Těžištěm práce je oddíl věnovaný výsledkům, v němž disertantka komentuje experimentální data získaná při široce pojaté komplexní studii funkce oxysterolů. Nejprve byla provedena analýza genové exprese vybraných faktorů oxysterolové dráhy, metabolismu a transportu oxysterolů a tyto výsledky porovnány s klinicko-patologickými daty pacientek. Cílem bylo nalezení potenciálních prognostických biomarkerů u pacientek s estrogen receptor (ER) pozitivním typem karcinomu prsu. Porovnáním se podařilo odhalit významné asociace mezi expresí některých genů s klinicko-patologickými daty pacientek. Například exprese genu *ABCG2* koreluje s bezpříznakovým přežíváním pacientek. Dále byly stanoveny hladiny oxysterolů v cirkulaci pacientek se stejným onemocněním a naměřené hodnoty opět porovnány s klinicko-patologickými údaji. Z výsledků vyplývá, že prognostický potenciál vykazuje pouze cholesterol-3 $\beta$ ,5 $\alpha$ ,6 $\beta$ -triol, jehož hladiny významně souvisí s bezpříznakovým přežíváním pacientek s karcinomem prsu. Jedná se o první studii, která tento vztah našla. V poslední části výsledku jsou presentována data z *in vitro* analýzy účinků 7-ketocholesterolu v modelových

buněčných liniích karcinomu prsu. Výsledkem těchto experimentů bylo zjištění rozdílného vlivu 7-ketocholesterolu na účinnost tamoxifenu u ER pozitivní a negativní buněčné linie karcinomu prsu. Pozorované efekty mohou souviset s odlišnou expresí enzymu CYP1B1 v přítomnosti tamoxifenu a 7-ketocholesterolu. Za významné zjištění lze též považovat, že 7-ketocholesterol má schopnost stimulovat migraci a invazivitu buněk nádorových buněčných linií bez ohledu na stav exprese ER. Na výsledkovou část práce navazuje oddíl diskuse, kde jsou vysvětleny motivace pro provedení jednotlivých studií a probrány zjištěné výsledky v širším kontextu současného stavu poznání studované problematiky. Diskuse je věcná a její rozsah je adekvátní množství naměřených dat. Disertační práce je ukončena přehledným závěrem shrnujícím základní výstupy popisovaných studií. Práce obsahuje úctyhodný seznam 261 literárních zdrojů. Zřejmě kvůli tomuto počtu se disertantka rozhodla pro nestandardní způsob formátu citací, kdy uvádí pouze 2-3 jména autorů a další nahrazuje zkratkou *et al.*

Velmi pozitivně lze hodnotit, že díky systematickému výzkumu oxysterolů jak v reálných vzorcích tkáně prsu, tak na různých modelových systémech s využitím celé škály experimentálních přístupů, se podařilo poodhalit roli těchto široce biologicky aktivních sloučenin v procesu rakoviny prsu a nalézt potenciální prognostické biomarkery.

Hodnotím-li vědeckou úroveň a přínos práce pro základní badatelský a orientovaný základní výzkum, je třeba konstatovat, že se jedná o práci velmi kvalitní, v níž disertantka dokázala soustředěně řešit vytčené cíle a získat hodnotné výsledky. Komplexní řešení přineslo významné vědecké výstupy naznačující aplikační potenciál.

Předkládaná práce je přehledně a pečlivě vypracována. Přesto se v textu, jako v každé práci většího rozsahu, objevují překlepy a formální chyby. Jako důkaz, že byla práce detailně prostudována a kriticky posuzována, uvádím pár příkladů:

- na str. 29 v názvu sloučeniny „7-keto-hydroxycholesterol“ vypadl číselný lokant
- na str. 30 je překlep „národu“, zřejmě „nádoru“
- na str. 40 chybný překlad „tekutý dusík“ ve smyslu „kapalný dusík“
- na str. 53 laboratorní slang: „ředící řada byla přidána“
- na str. 97 je překlep „metylace“, místo „methylyace“

Má další připomínka se týká uvádění názvů enzymů, kdy ve vědecké literatuře je závazná koncovka „asa“.

Závěrem této části posudku mohu konstatovat, že zmíněné drobné nedostatky nikterak nesnižují vysokou vědeckou hodnotu předkládané práce.

K autorce mám následující dotazy:

1. Jaký je mechanismus tvorby ROS indukované oxysteroly? Souvisí to nějak s pozicí substituentu na steranovém skeletu?
2. Co může ovlivnit stabilitu 7-KC v inkubacích s různými buněčnými liniemi?
3. Čím si vysvětlujete skutečnost, že linie MCF-7 a T47D reagují na TAM odlišně ve smyslu jejich proliferace, přestože jsou obě ER+ (viz Obr. 15)?
4. Jak si vysvětlujete, že invazivita buněk (viz Obr. 18) vykazuje negativní koncentrační závislost na 7-KC? Jsou použité koncentrace 7-KC fyziologicky relevantní?
5. Jsou již některé oxysteroly používány terapeuticky v klinické praxi?

Závěrem je možno konstatovat, že Mgr. Alžběta Spálenková prokázala jak velmi dobrou orientaci ve studované problematice, tak schopnost vědecké práce, včetně publikace získaných

výsledků v impaktovaných mezinárodních časopisech. Je potěšující, že při řešení studované problematiky byly získány originální výsledky naznačující možné aplikace.

Předkládanou práci hodnotím jako kvalitní vědeckou studii, která splňuje veškeré požadavky kladené na disertační práce. V souladu ustanovením § 47, odst. 4, zákona č.111/1998 Sb. o vysokých školách uchazečka prokázala schopnost a připravenost k samostatné činnosti v oblasti výzkumu a vývoje. Dále potvrzuji, že práce byla objektivně a kriticky hodnocena a byla shledána jako vyhovující. Proto doporučuji, aby byla disertační práce přijata k obhajobě a aby na základě úspěšné obhajoby byl Mgr. Alžbětě Spálenkové udělen akademický titul Ph.D.

V Praze, 4. 9. 2023

Prof. RNDr. Petr Hodek, CSc.