

## Oponentský posudek na disertační práci

Jméno oponenta: Doc. RNDr. **Jan Brábek**, Ph.D.

Datum 15.11.2018

Autor: Mgr. **Sandra Lettlová**

Název práce: **Mechanisms of resistance and iron metabolism in cancer stem cells**

Mechanismy rezistence a metabolismus železa u nádorových kmenových buněk

Cílem disertační práce Mgr. Sandry Lettlové bylo analyzovat mechanismy rezistence s důrazem na transportéry rodiny ABC a změny v metabolismu železa v nádorových kmenových buňkách karcinomu prsu a prostaty.

Práce je přehledně členěna na předepsané části. Po abstraktu v anglickém a českém jazyce, seznamu publikací autorky a seznamu zkratk následuje úvod práce, zahájený přehledem cílů práce a jejich významu v kontextu výzkumu nádorových kmenových buněk. Na cíle práce navazuje čtivý literární přehled, psaný dobrou angličtinou. Přehled je rozdělen na dvě části. První se věnuje mechanismům rezistence nádorových buněk s důrazem na heterogenitu nádorů, nádorové kmenové buňky, úlohu microRNA a transportérů rodiny ABC v rezistenci. Druhá část úvodu se věnuje metabolismu železa a je uzavřena kapitolou o úloze železa v nádorové progresi. Po úvodu následuje další kapitola o cílech práce, tentokrát zaměřená na konkrétní experimentální cíle a poměrně stručná, ale přehledná kapitola Materiály a metody.

V kapitole Výsledky jsou v celkem 19 kapitolách velmi podrobně popsány výsledky, vztahující se k jednotlivým cílům disertační práce. Diskuse v rozsahu 15 stran je velmi zdařilá, hodnotí většinu výsledků a uvádí je do souvislostí s nejnovějšími pracemi v oboru. Následuje Shrnutí výsledků a přehled použité literatury obsahující úctyhodných 360 prací.

Autorka se spolupracovníky ukázala, že nádorové kmenové buňky odvozené z buněčných linií rakoviny prsu a prostaty exprimují celkově vyšší hladinu ABC transportérů. Sféry připravené z buněčných linií T47D a MCF7 vykazují rezistenci k daunorubicinu a doxorubicinu, a překvapivě také vyšší citlivost k inhibitorům transportérů ABCC1 a ABCG2. Tyto výsledky naznačují, že ABC transportéry mohou hrát důležitou roli při udržování fenotypu nádorových kmenových buněk, jež nesouvisí s transportem léčiv.

Dále autorka zjistila, že onkogenní microRNA-301a-3p je vysoce zvýšená v modelu kmenových buněk karcinomu prsu, které vykazují pokles ER signalizace. Ukázala, že miR-301a-3p negativně reguluje ER signalizaci přímou represí translace mRNA kódující ER $\alpha$ . Vysoká exprese miR-301a-3p snižuje citlivost estrogen dependentních MCF7 buněk k 17- $\beta$  estradiolu a podobně vede k inhibici růstu nádoru pocházejícího z této buněčné linie v nahých myších, které mají poškozený imunitní systém. Vzniklé nádory nicméně vykazují významně zvýšenou expresi genů souvisejících s fenotypem nádorových kmenových buněk a epiteliálně-mezenchymální tranzicí. MiR-301a-3p tak může sloužit jako ukazatel závislosti růstu nádoru na estrogeneru a jeho rezistenci vůči anti-estrogenním lékům, ale potenciálně také jako ukazatel prognózy pacienta.

Autorka rovněž ukazuje, že sféry odvozené z buněčné linie MCF7 vykazují vyšší množství volného železa, vyšší příjem železa s jeho převažující hromadění v mitochondriích a jsou citlivější k chelaci železa. Aktivita enzymů obsahujících železo-sírné klastry je ve sférách snížena, což naznačuje narušení mechanismu jejich biogeneze. Dále MCF7 sféry vykazují výrazněji oxidační prostředí, které je odrazem vyšší tvorby reaktivních druhů kyslíku a nižší hladiny redukováného glutationu. Expresní profil genů spojených s metabolismem železa u nádorových kmenových buněk odvozených z buněčných linií rakoviny prsu a prostaty odhalil specifický expresní vzor, založený na rozdílné expresi genů souvisejících s vychytáváním železa, detekcí hladiny železa a její regulací, mitochondriální syntézou hemu a železo-sírných klastrů, hypoxií a exportem železa, což poukazuje na značné změny v metabolismu železa u nádorových kmenových buněk.

Vytčené cíle disertační práce byly jednoznačně splněny. Ve své práci autorka využila velké množství metod molekulární a zejména buněčné biologie. Prokázala schopnost formulovat hypotézy, provádět komplexní experimenty, kriticky je hodnotit a výsledky uvádět do širších souvislostí. Rovněž prokázala schopnost připravovat rukopisy vědeckých prací pro publikaci v mezinárodních impaktovaných časopisech. Výstupem práce jsou dvě publikace v kvalitních mezinárodních časopisech, v obou těchto publikacích je kandidátka první autorkou. Navíc je spoluautorkou čtyř dalších kvalitních publikací v mezinárodních časopisech.

**Práce podle mě jednoznačně splňuje požadavky na disertační práci a navrhuji její přijetí.**

Po formální stránce nemám k práci kromě poněkud nepřehledného, a ne zcela správně česky napsaného abstraktu připomínky, práce je psaná velmi dobrou angličtinou, obrazová dokumentace i celková úprava je na vysoké úrovni.

K práci mám následující otázky:

Jaké možné role, nesouvisející s transportem léčiv by mohly transportéry z rodiny ABC hrát při udržování fenotypu nádorových kmenových buněk?

Jaký význam může mít propojení ISC se stabilitou genomu?

Jakým způsobem se QSOX1 může podílet na invazivitě a metastázování?

Podpis oponenta:



Doc. RNDr. Jan Brábek, Ph.D.