



Studijní oddělení
Lékařská Fakulta v Hradci Králové
Univerzita Karlova
Šimkova 870
500 03 Hradec Králové

V Hradci Králové, 23. 2. 2022

OPONENTSKÝ POSUDEK DISERTAČNÍ PRÁCE

Autor: Mgr. Darja Koutová, Ústav lékařské biochemie, LF HK
Téma: In vitro studium mechanismu protinádorového účinku montaninových alkaloidů čeledi Amaryllidaceae
Školitel: RNDr. Radim Havelek, Ph.D., Ústav lékařské biochemie, LF HK
Oponent: pplk. doc. PharmDr. Aleš Tichý, Ph.D., Katedra radiobiologie, Fakulta vojenského zdravotnictví, Univerzita obrany, Hradec Králové

Předložená doktorská práce Mgr. Koutové je sepsána ve formě souboru komentovaných prací se standardním členěním na Cíle práce, Seznam publikací, Úvod do problematiky, Komentované publikace, Diskuze, Závěr a Seznam použité literatury. Autorka využila možnost do práce vložit své publikace a celkem jsou tak v práci komentovány 4 články. Text samotné disertační práce je na dobré úrovni odborné i stylistické za využití platné terminologie. Svým vědeckým pojetím je zaměřen na studium mechanismu protinádorového účinku montaninových alkaloidů izolovaných z rostlin čeledi amarylkovitých.

Stanovené cíle jsou plně ve shodě s oblastí působení doktorského studijního programu Lékařská chemie a biochemie a bylo jich dle mého soudu plně dosaženo. Oceňuji interdisciplinaritu práce, kdy se autorka musela seznámit a osvojit si nejen vlastní obor lékařské biochemie, ale pochopit i souvislosti s přesahem do botaniky, fytochemie a molekulární biologie.

Zvolené metody zpracování jsou adekvátní a představují klasické přístupy buněčné a molekulární biologie. Téma je vysoce aktuální. Isochinolinové alkaloidy jsou stále v centru pozornosti, ale pro jejich zavedení do klinické praxe je zapotřebí hlubší studium mechanismu účinku. Tato práce přinesla řadu nových poznatků o signálních drahách a molekulárních mechanismech aktivovaných v nádorových buněčných liniích po aplikaci montaninových



alkaloidů. Ve světě existuje několik laboratoří, které se výzkumem obsahových látek Amaryllidaceae v kontextu protinádorové terapie zabývají a lze tedy očekávat i citační ohlasy.

Práce oponenta je značně zjednodušená díky faktu, že Mgr. Koutová výrazně překračuje minimální publikační požadavky kladené na studenty doktorských programů, ale i tím, že publikované články prošly samostatným recenzním řízením v prestižních mezinárodních periodících. Při pročítání textu jsem nenarazil na zjevné nedostatky či z odborného hlediska chybně podané pasáže, které by zásadním způsobem srážely celé dílo. Naopak, práce je čtivá a lze se v ní dobře zorientovat. Nicméně mám na disertantku několik dotazů:

1. Používala jste ve svých experimentech odmývání alkaloidů (tzv. washout) a proč? Mohlo to nějak ovlivnit dosažené výsledky? Co je známo o degradaci či interkonverzi Vámi zkoumaných alkaloidů?
2. Ve své práci jste se mimo jiné zabývala fosforylací proteinu p53 na serinu 392. Můžete popsat, jakou má tato fosforylace funkci a jaký význam má ve Vámi pozorovaných dějích?
3. Podařilo se Vám prokázat signifikantní protinádorový efekt. Nakolik jsou Vámi testované látky specifické proti nádorovým buňkám vzhledem k tomu, jaký měly efekt na nenádorovou linii MRC-5? Jaký je potenciál těchto látek dostat se do klinických studií, potažmo do praxe?
4. Závěrem mi dovolu je ještě jeden komentář, nikoliv výtku. V úvodu práce píšete, že jedním z Vámi stanovených cílů je studium mechanismu účinku daných alkaloidů. Ve své práci se omezujete pouze na zhodnocení, zda je účinek montaninových alkaloidů spojený s apoptózou a bloádou buněčného cyklu. Skutečné mechanistické studie však v dnešní době ovlivňuje tzv. „-omická éra“ metodologických přístupů. Jaké metody by našly uplatnění i ve Vaší práci?

Závěr: na základě výše uvedeného **DOPORUČUJI** doktorskou práci přijmout k obhajobě a po úspěšném obhájení udělit Mgr. Darje Koutové titul Ph.D.