



OPONENTSKÝ POSUDOK NA HABILITAČNÚ PRÁCU

Názov práce: Antineoplastický potenciál indolových fytoalexínov a ich syntetických derivátov.

Autor: MVDr. Martina Zigová, PhD.

Pracovisko: Univerzita Pavla Jozefa Šafárika v Košiciach, Lekárska Fakulta

Odbor habilitačného konania: Farmakológia

Oponent práce: Prof. MUDr. Martina Šutovská, PhD.

Pracovisko oponenta: Ústav farmakológie, JLF UK v Martine

Habilitačná práca MVDr. Martiny Zigovej, PhD. sa zaoberá štúdiom antiproliferatívneho účinku indolových fytoalexínov a ich derivátov na ľudských nádorových bunkových líniách s cieľom identifikovať účinných kandidátov na ďalší výskum ako inovatívnych protinádorových liečiv s potenciálom ich využitia v klinickej praxi. Protinádorový potenciál indolových fytoalexínov, sekundárnych metabolitov s nízkou molekulovou hmotnosťou, ktoré sú rastlinami (najmä z čeľade *Brassicaceae*) produkované v rámci reakcie na vonkajšie stimuly, bol opakovane potvrdený v predchádzajúcich výskumných aktivitách materského pracoviska habilitantky. Ich syntetické deriváty môžu mať vďaka zmenám v štruktúre molekuly zásadne vylepšené farmakokinetické a farmakodynamické vlastnosti. Z uvedených skutočností vyplýva klinický význam predloženej práce, pretože zvyšujúca sa incidencia malígnych nádorových ochorení jednoznačne podporuje zmysel štúdia akýchkoľvek mechanizmov a nových liečiv, ktoré by prispeli k skorej diagnostike a prípadnej cielenej terapii.

Predložená habilitačná práca je vypracovaná na 137 stranách a obsahuje všetky predpísané časti. Formálne spracovanie predkladaného textu, spôsob pochopiteľného opisu danej problematiky, ako aj diskutované výsledky a závery jasne dokladujú pedagogické schopnosti vysvetliť zvolenú tému a vyvodiť z nej logické závery. Ciele práce sú stanovené jasne a prehľadne.

V úvode práce sa autorka venuje chemickej štruktúre, farmakológii, zdravotným benefitom a protinádorovému potenciálu najvýznamnejších indolových fytoalexínov, predovšetkým brasinínu a kamalexínu, ktoré sú v súčasnosti z týchto perspektív najviac preskúvané. Protinádorové



pôsobenie je detailne analyzované, vrátane ich efektu na rôzne molekulárne onkogenetické mechanizmy. K ľahkému porozumeniu textu napriek náročnosti problematiky prispieva vynikajúca grafická prezentácia informácií. Oceňujem aj výber experimentálnych prác dokazujúcich protinádorový efekt, kde sa zdá byť dôraz kladený aj na kombinačný potenciál fytoalexínov a ich kompatibilitu s klasickými chemoterapeutikami a cieľenou liečbou. Druhá časť úvodu práce je zameraná na štúdium vlastností a účinnosti syntetických derivátov indolových fytoalexínov a koreláciu zmien v chemickej štruktúre s mierou ich antiproliferatívneho účinku.

Výsledková časť práce demonštruje antiproliferatívny efekt brasinínu, jeho derivátov homobrasinínu a 1-metoxyzobrasinínu ako schopnosť indukovať programovanú bunkovú smrť, ovplyvňovať bunkový cyklus nádorových buniek a relatívnu úroveň expície génov a proteínov, ktoré ho regulujú a schopnosť modulovať významné signálne dráhy zapojené do proliferácie bunkového cyklu a apoptózy. Efekt bol sledovaný na bunkových líniách simulujúcich niektoré typy nádorových ochorení (Jurkat, CEM, MCF-7, MDA-MB-231, A-549, HeLa, HCT116, Caco-2). Na porovnávacie účely boli zvolené klasické antineoplastické liečivá (napr. cisplatina). Zároveň skrínigovo hodnotí antiproliferatívny potenciál ďalšej rozsiahlej skupiny liečiv, trifluórmetylfenylamino substituovaných spiroindolov.

Uvedená časť je postavená na vlastných výsledkoch získaných v rámci riešenia uvedenej problematiky, ktoré sú prezentované v piatich priložených prácach. Nakoľko tieto práce boli publikované v renomovaných časopisoch a prešli prísny recenzným konaním, je na mieste konštatovať ich vysokú odbornú, metodickú a výsledkovú úroveň.

Práca má primeraný rozsah, sú v nej jasne prezentované originálne výsledky, ktoré obohatia úroveň poznania v danej oblasti a zároveň majú vysoký klinický význam. Za najdôležitejšie výsledky možno považovať:

- o poznanie mechanizmov antiproliferatívneho účinku 1-metoxyzobrasinínu, ktorý bol dokázaný na bunkách Caco-2. Je významným induktorom apoptózy (zvýšenie počtu buniek s obsahom sub-G₀/G₁ DNA, analýza fragmentácie DNA, zvýšenie expície proapoptotického génu Bax a aktivity kaspáz, zníženie expície antiapoptotických génov Bcl-2 a Bcl-xL), znižuje mieru opráv DNA proteínom PARP a intracelulárny obsah GSH.
- o poznanie mechanizmu antineoplastického účinku homobrasinínu na rovnakej bunkovej línii ako v prípade predchádzajúceho fytoalexínového derivátu. Tento je založený na inhibícii bunkového cyklu na rozhraní G₂/M fázy, tvorbe ROS a následnej indukcii apoptózy.



- Dôkazom úlohy ROS v mechanizme účinku homobrasinínu je dysregulácia tubulínu a inhibícia antiproliferatívnej aktivity liečiva antioxidantom troloxom.
- potvrdenie účinnosti 1-metoxyzobrasinínu (MB-591) voči cisplatina-citlivým (A2780) a aj cisplatina-rezistentným bunkám ovariálneho karcinómu (A2780cis) a identifikácia niektorých mechanizmov, ktoré sa na ňom podieľajú.
- Ide najmä o kombináciu poškodenia DNA spôsobeného ROS (overenú podávaním NAC) a inhibície reparačných možností DNA (štiepenie PARP), ktoré sú sprevádzané modifikáciami kľúčových proteínov regulujúcich bunkový cyklus (PCNA a dysfunkciou mitochondrií. Výsledky tiež naznačili možnú aktiváciu autofágie ako pokusu o prežitie v rezistentných bunkách A2780cis.

Uvedené najvýznamnejšie, originálne výsledky sú prehľadne sformulované v závere habilitačnej práce. Zároveň je naznačený aj ich možný klinický potenciál a ďalšie smerovanie výskumu v danej oblasti. Vyzdvihujem váhu dosiahnutých vedeckých výsledkov, vyzretosť habilitantky a prínos habilitačnej práce.

Napriek uvedenému mám k predloženej práci nasledovné otázky:

- Potvrdili ste zapojenie viacerých mechanizmov antiproliferatívneho účinku homobrasinínu, 1-metoxybrasinínu a jeho izoméru 1-metoxyzobrasinínu. K ktorými klasickými cytostatikami a novými cielenými cytostatikami by mohli byť teoreticky kombinované s cieľom dosiahnuť lepší terapeutický efekt?
- Práce uvedené v habilitačnej práci sú dielom autorov pôsobiacich nielen na slovenských pracoviskách, ale aj v zahraničí a sú bohaté na širokú škálu metodických postupov. Ktoré z nich ste vykonali Vy osobne v laboratóriu?
- V poslednej publikovanej práci (Príloha 5) uvádzate, že ROS zohrávajú dôležitú úlohu v antiproliferatívnom účinku fytoalexínu MB-591. Aký je Váš názor na potenciálne použitie takýchto látok v klinickej praxi. Nehrozí poškodenie aj nenádorových tkanív?

Záver:

Na základe predložených materiálov jednoznačne konštatujem, že MVDr. Martina Zigová, PhD. je výraznou vedecko-pedagogickou osobnosťou. Predložená habilitačná práca spĺňa všetky podmienky pre prijatie na obhajobu, a preto odporúčam, aby bol po úspešnej habilitačnej prednáške a obhájení téz habilitačnej práce **MVDr. Martine Zigovej, PhD.**



udelený vedecko-pedagogický titul docent v študijnom programe habilitačného a inauguračného konania „Farmakológia“, študijnom odbore „Farmácia“, podľa kritérií Lekárskej fakulty, Univerzity Pavla Jozefa Šafárika v Košiciach.

V Martine, 12. 11. 2024

Prof. MUDr. Martina Šutovská, PhD.