

Oponentský posudek na disertační práci **Mgr. Terezy Černé**

Téma práce: **Studium mechanismu účinku protinádorových léčiv na neuroblastomy**

Předkládaná disertační práce se zabývá aktuální problematikou v oblasti onkologického výzkumu, a to hledáním a objasněním mechanismů účinku protinádorových léčiv elliptycinu a doxorubicinu, které by přispěli k efektivnější léčbě nádorových onemocnění.

Disertační práce je postavena na pěti impaktovaných publikacích a jednom rukopisu. Autorka je na jednom z nich vedena jako první autor a na ostatních publikacích zaujímá 2. – 9. místo v pořadí autorů. U každé publikace je přesně specifikováno, jakým dílem se na ní autorka podílela.

Úvod práce stručně oobeznamuje čtenáře s řešenou problematikou, včetně odkazů na literaturu. Následuje přehled použitých metod a kapitola výsledky a diskuze, která je podpořená seznamem publikací.

Hlavním cílem předkládané disertační práce bylo studium vlivu protinádorových léčiv elliptycinu a doxorubicinu na vybrané nádorové i nenádorové buněčné linie. V první části se autorka zabývá enkapsulovanou formou CYP 3A4 v liposomálním a supersomálním systému a jeho schopnosti tvořit aktivační metabolity a adukty s DNA. Další publikace pojednává o mechanismu vzniku chemoresistence neuroblastomové buněčné linie UKF-NB-4 vůči elliptycinu. Bylo zjištěno, že resistance je závislá na expresi V-ATPasy a akumulaci elliptycinu v lysosomech. V případě, že je funkce tohoto enzymu inhibována (bafilomycin A, chloroquin), je akumulace elliptycinu ve vakuolách snížena a toxicita elliptycinu pro neuroblastomové buňky je vyšší. Další část předkládané disertační práce navazuje na dříve provedené studie, kde bylo prokázáno, že kyselina valproová (VPA) potencuje účinek cytostatik (etoposid, cisplatina). VPA inhibuje histondeacetylasy a tím potencuje cytotoxicitu elliptycinu. Důležité zjištění je, že synergický účinek elliptycinu a VPA je pozorován pouze v případě současného podání nebo v případě, že buňky byly nejprve vystaveny působení elliptycinu a poté VPA. Součástí disertační práce byl i zajímavý soubor experimentálních prací věnujících se přípravě nanotransportérů a jejich využití v cílené léčbě nádorových buněk. Jako vhodný nanotransportér byl vybrán přirozeně se vyskytující apoferritin (Apo), který za normálních podmínek slouží jako proteinová složka feritinu. Z výsledků je patrné nejenom úspěšné „dopravení“ elliptycinu do neuroblastomových buněk, ale i schopnost komplexu apoferritin-ellipticin disociovat v kyselém pH, které je typické pro nádorové buňky a tvořit adukty s DNA. Při experimentech s doxorubicinem byl navíc povrch Apo modifikován (zlaté nanočástice, heptapeptid a protilátka proti specifickému prostatickému antigenu-PSMA) a takto připravený nanotransportér byl schopný specificky „zacílit“ na prostatické nádorové buňky LNCaP, které na svém povrchu exprimují antigen PSMA.

Doktorandka uplatnila při řešení problematiky racionální přístup a prokázala, že ovládá široké spektrum experimentálních metod a přístupů. Samotná práce obsahuje několik důležitých výsledků. Já osobně považuji za nejzajímavější výsledky ze studií s apoferritinem, jako vhodným nanotransportérem pro protinádorové léčiva. Dále také výsledky ze studie s kyselinou valproovou a zjištění, že sekvence podání léčiv ovlivňuje cytotoxické účinky

protinádorového léčiva ellipticinu. Z těchto důvodů plně doporučuji předkládanou disertační práci k úspěšnému obhájení.

K předložené práci mám tyto dotazy:

1. Ve Vaší práci jste se zaměřila na práci s neuroblastomovými buněčnými kulturami (UKF-NB-4, SH-SY5Y), které byly vystavené působení ellipticinu a kyseliny valproové. Jak již bylo zmíněno, z výsledku je patrné, že VPA je schopná potencovat cytotoxické účinky ellipticinu v těchto nádorových buňkách. Neuvažujete, že pro další doplnění a rozšíření této problematiky byste mohla využít modelový organismus napr. myš nesoucí neuroblastom a ověřit tak Vaše výsledky *in vivo*? Případně neuvažujete nad dalšími experimenty s jinými nádorovými liniemi (leukemické buňky, buňky plicního karcinomu)?
2. Pro „zacílení“ apoferitinového nanonosiče s navázaným ellipticinem do neuroblastomových buněk UKF-NB-4 jste využila fakt, že tyto buňky exprimují na svém povrchu receptory TfR1 a SCARA5, které slouží k přenosu feritinu do buňky. Nicméně tyto receptory mohou být přítomny i na jiných nenádorových buňkách. Existují jiné specifické povrchové antigeny pro neuroblastomové buňky, které by mohli sloužit pro přípravu nanonosiče s protinádorovým léčivem a s protilátkou proti tomuto antigenu?
3. V teoretickém přehledu jste kromě proteinových nanotransportérů vyjmenovala i další organické a anorganické nanonosiče. Máte v plánu experimenty i s jinými typy nanotransportérů, případně neuvažujete nad srovnávací studií, kde byste porovнала účinnost, specifitu, případně toxicitu jednotlivých nanotransportérů?

Závěr: Po stránce aktuálnosti řešeného problému, metodického přístupu, množství získaných nových poznatků a jejich významu jde o výbornou doktorskou disertační práci. Autorka prokázala potřebné odborné vědomosti i schopnost samostatné vědecké práce. Na základě uvedených skutečností doporučuji, aby byla doktorská disertační práce přijata k obhajobě a

aby byla Mgr. Tereze Černé udělena vědecká hodnost „ Ph.D.“.

V Praze dne 28.8.2018

RNDr. Iveta Mrízová, Ph.D.