

Posudek na dizertační práci Mgr. Terezy Černé

Studie mechanismu účinků protinádorových léčiv na neuroblastomy

Předkládaná dizertační práce se zabývá studiem různých aspektů účinku protinádorových léčiv v buněčných modelech neuroblastomu a karcinomu prostaty *in vitro*. Mezi hlavní motivy studia patří využití metabolické aktivace elliptycinu ke zvýšení jeho účinků uvnitř nádorových buněk, studium hlavního mechanismu chemoresistence a vývoj účinnějších kombinací léčiv a systémů pro jejich lepší cílení pomocí nanočástic a protilátek. Všechny cíle dizertace jsou originální a práce přináší řadu unikátních poznatků. Vědecky se práce zabývá velmi závažnou problematikou a lze tedy konstatovat, že téma dizertační práce bylo zvoleno vhodně a v souladu s nároky kladenými na doktorské studium.

Hlavní pozitiva dizertační práce

Práce je sepsána klasickou formou a rozdělena do sekcí Úvod a přehled literatury (30 stran), Cíle práce (2), Materiál a metody (21), Výsledky a diskuze (43), Závěr (3) a Použitá literatura. Dále jsou přiloženy výtisky 5 prací publikovaných v časopisech s impakt faktorem a jednoho rukopisu určeného k zaslání do časopisu. Úvod a přehled literatury uvádí čtenáře do studované problematiky. Tato část působí velmi konsistentně a nejsou vynechány žádné podstatné informace pro pochopení cílů práce a jejího postupu.

Celkem pět cílů práce je jasně vymezených a vyplývají z informací podaných v úvodní části. Cíle práce jsou v souladu s moderními trendy výzkumu u nás i ve světě a představují důležitý příspěvek k dalšímu rozvoji cílené terapie a personalizované medicíny.

Metodicky jsou všechny práce na vynikající úrovni a výsledky studia značně rozšiřují oblast poznání či přináší zcela unikátní zjištění v oboru. Doktorandka je první autorkou jedné z pěti publikací. Práce s jejím prvoautorstvím nebo spoluautorstvím mají celkový impakt faktor téměř 15, což značí vynikající publikační aktivitu. Školitelka deklaruje 30-90% přínos doktorandky ke vzniku těchto prací a převažující podíl na všech experimentech, což je dalším důkazem velkého množství práce, které studentka na této práci provedla. Velmi oceňuji zejména multidisciplinární rozměr práce a zapojení týmů z řady institucí, což jistě kladlo vysoké nároky na koordinaci jednotlivých činností.

Závěry odpovídají dosaženým výsledkům. Mezi hlavní a originální výsledky patří:

- 1/ Cytochrom P450 3A4 enkapsulovaný do mikrozomů metabolicky aktivuje ellipticin na DNA poškozující adukty účinněji než v případě jeho enkapsulace do liposomů.
- 2/ Resistence buněčných linií neuroblastomu, se sníženou citlivostí vůči elliptycinu, je způsobena zvýšenou expresí V-APTázy. Tato resistence může být potlačena použitím specifických inhibitorů.
- 3/ Inhibitor deacetyláz, valproová kyselina, zvyšuje cytotoxicitu elliptycinu pro buněčné linie neuroblastomu *in vitro*. Efekt je významný jen pro některé způsoby podání (předlčení linií elliptycinem a dále podání valproátu nebo simultánní podání elliptycinu a valproové kyseliny).
- 4/ Příprava enkapsulovaného elliptycinu s apoferritinem a velmi komplexní charakterizace účinků tohoto zajímavého systému na buněčné úrovni. Tato studie navíc ukázala, že komplex ellipticin-apoferritin se uvolňuje v mikrozomálních kompartmentech, kde dochází k metabolické aktivaci P450 enzymy. Navíc byl zaznamenán odlišný způsob inkorporace apo-elliptycinu v subcellulárních kompartmentech u nádorové linie ve srovnání s linií bez nádorových vlastností.
- 5/ Porovnání vlastností systému apo-doxorubicinu se stejným systémem cíleným na prostatické nádorové buňky pomocí protilátky proti PSMA (prostate specific membrane antigen). Cílený systém apoDOX-antiPSMA měl prokazatelně větší cytotoxický efekt na prostatické nádorové buňky linie LNCaP než na endoteliální buňky line HUVEC *in vitro*. Enkapsulace se tak jeví jako velmi dobrá

cesta k omezení toxicity u normálních tkání při současném zachování cytotoxických účinků na rychle se dělící nádorové buňky.

Počet překlepů nepřekračuje míru obvyklou u tohoto typu a rozsahu práce. Dizertace působí harmonicky a je pečlivě vypracována po stránce faktické i formální. Zároveň práce poskytuje dostatek podnětů k diskusi a zamyšlení nad možnými interpretacemi výsledků a budoucím vývojem v oboru. Autoreferát je psán česky i anglicky a rovněž splňuje předepsané požadavky.

Komentáře a otázky k vlastní práci

Všechny práce přiložené k dizertaci byly recenzovány renomovanými odborníky, tudíž následující dotazy slouží spíše k podpoření diskuze a k širšímu náhledu do uvedené problematiky.

1/ Jaká je úloha cytochromu P450 3A5 v metabolismu a metabolické aktivaci elliptcinu na intermediáty poškozující DNA (adukty) ve srovnání s P450 3A4?

2/ Co je známo o regulaci exprese a funkce V-ATPáz? Proteinů v tomto komplexu je celá řada (OMIM) – na základě čeho jste vybrali jen jeden (ATP6V0D1)? Existují genetické nebo epigenetické faktory, které by bylo možné u pacientů použít k predikci resistance, např. analýzou cílových tkání nebo genetické variability (polymorfismu, apod.) v těchto genech? Existují nějaké klinické studie s inhibitory V-ATPáz?

3/ Jakým způsobem plánujete dále rozvíjet problematiku studia konjugátů cytostatik s apoferritinem?

Dizertační práce, dle mého názoru, splnila svůj účel, protože autorka prokázala schopnost samostatné vědecké práce. Výsledky byly publikovány ve kvalitních odborných časopisech a významně rozšiřují oblast poznání. Z těchto důvodů doporučuji předloženou práci k obhajobě.

V Praze dne 25.8.2018



Vypracoval: doc. RNDr. Pavel Souček, CSc.