

Vážený pan
Prof. RNDr. Jiří Barek, CSc.
Předseda habilitační komise
Přírodovědecká fakulta Univerzity Karlovy
Albertov 6, 128 43 Praha 2

Věc: Oponentský posudek na habilitační práci Mgr. Zbyňka Hegera, Ph.D.

Autor práce: Mgr. Zbyněk Heger, Ph.D.

Název práce: Biochemické aspekty využití materiálů v biomedicínských aplikacích

Oponent: prof. RNDr. Šárka Pospíšilová, Ph.D.

Vážený pane profesore,

bylo mi potěšením se ujmout oponentury habilitační práce mladého nadějného biochemika Mgr. Zbyňka Hegera, Ph.D. Habilitační práce Dr. Hegera se zabývá problematikou jednotlivých odvětví nanotechnologií, v nichž autor aktivně působil, a podrobně se věnuje vývoji nanomateriálů pro cílenou terapie různých typů onemocnění.

Habilitační práce je předložena ve formě souboru 23 publikací (s průměrným IF 6,27), z nichž 12 je z oboru bionanomateriály, 8 z oboru anorganické materiály a uhlíkové alotropy, 3 z oboru autonomní dynamické systémy. Většina prezentovaných publikací obsahuje originální experimentální výsledky, ve dvou případech jedná o přehledové práce, přičemž uchazeč je prvním autorem u 3 předložených publikací a korespondujícím autorem u 8 publikací. Za ocenění stojí zvládnutí řady technologií využívajících jak modely *in silico* a/nebo *in vitro*, ale také *in vivo* myší modely.

Úvodní část práce na 32 stranách komentuje zaměření jednotlivých součástí (bloků) habilitační práce a dokumentuje ucelený přehled autora o řešené problematice. Text velmi poutavě představuje výzkum a možné uplatnění nanoléciv a velmi dobře dává do souvislostí všechny publikované výsledky, takže působí celistvě a čtivě.

Celkově práce předkládá výsledky, které mohou významně napomoci rozvoji využití nanoléciv. Výzkum dr. Hegera a spoluautorů se podrobně zabývá jejich stabilitou, specifitou, efektivitou a v neposlední řadě i toxicitou. Dr. Heger ve své práci adresuje aktuální otázky cílené léčby řady onkologických onemocnění a k hledání odpovědi používá nejmodernější nástroje, včetně mikro- či nanorobotů schopných zajistit efektivní mobilitu léčiv. Shrnutí každého bloku obsahuje i výhled do budoucna, tedy záměr, na co se uchazeč plánuje zaměřit ve své další výzkumné práci. Nedostatkem je chybějící seznam použité literatury, na který by odkazovaly citace z textu.

K problematice habilitační práce Dr. Hegera mám několik dotazů a námětů pro diskusi:

- Do jaké míry jsou nanoléciva v současné době aplikována v klinické praxi, příp. u kterých onemocnění? V jaké lékové formě mohou být podávána? Existují nějaké legislativní překážky pro podávání nanoléciv v ČR či Evropě?
- Na str. 9 je zmíněn Salvarsan („průkopník“ cílené terapie) jako první efektivní léčivo k léčbě syfilis. Nachází tato látka uplatnění v medicíně i dnes?
- Str. 10: První nanolécivo Doxil (mimo USA známý jako Caelyx) je doxorubicin enkapsulovaný v liposomálním obalu. Toto nanolécivo má i alternativu – Myocet. Lze porovnat účinnost a toxicitu léčby běžného doxorubicinu, Doxilu/Caelyxu a Myocetu a jejich současné klinické využití?
- Na str. 10 je zmíněno, že se „pasivním transportem se do nádorové tkáně dostane pouze malé procento aplikovaných částic kvůli vysokému intersticiálnímu tlaku uvnitř nádoru.“ Je známo, jak se v tomto ohledu liší jednotlivé typy nádorů a jaká je účinnost pasivního transportu ve srovnání v moderními nanolécivy?
- Str. 17 – Jak se projevuje nežádoucí akumulace nanoléciv na bázi feritinu v játrech a srdci a je možné jí předejít?
- Na str. 22 je uvedeno, že sarkosin je „onkometabolit důležitý pro rozvoj karcinomu prostaty“. V citované publikaci (Sreekumar et al., 2009) byl zároveň vysloven závěr, že sarkosin může sloužit jako potenciální biomarker karcinomu prostaty, avšak tato domněnka byla následně mnohými autory zpochybněna. Jaký je aktuální postoj vědecké komunity k sarkosinu jako markeru karcinomu prostaty a jsou Vaše výsledky v souladu či v rozporu s publikovanými výsledky o této problematice?
- Na str. 24 jsou uvedeny tři anorganické materiály, které jsou schváleny pro použití v humánní medicíně (tj. Endorem, Lumirem a Resovist) jako kontrastní látky pro magnetickou rezonanci. Jsou pro použití v humánní medicíně schváleny i další anorganické nanomateriály sloužící pro cílený transport léčiv či foto(termální) ablační terapii?

- Str. 27 – práce II-4 se zabývá duálním transportem antisense-oligonukleotidů navržených pro inhibici exprese antiapoptotického proteinu Bcl-2 a etoposidu u buněk nemalobuněčného karcinomu plic. V léčbě lymfoproliferativních onemocnění se již rutinně využívá inhibitor proteinu Bcl-2 Venetoclax. Porovnávali jste účinnost vaší metody s tímto inhibitorem? Bylo by možné venetoclax použít pro transport prostřednictvím nanomateriálů?
- Str. 30 (publikace II-6) – Pro testování cytotoxicity TiO₂-nanotrubeček byla používána buněčná linie HEK-293. I přesto, že buňky HEK-293 nebyly získány od onkologického pacienta (na rozdíl od buněk MDA-MB-231), se jedná o buněčnou linii s komplexním karyotypem a řadou chromozomálních aberací. Nemohou tyto aberace ovlivnit testování cytotoxicity nanotrubeček? Nebylo by vhodné provést testování i s primárními nádorovými buňkami?
- Str. 35 – Je v reálném čase možné monitorovat transport mikro- či nanorobotů *in vivo* v lidském těle?

Dovolují si také upozornit na několik drobných formálních nedostatků:

Nedostatky v diakritice v úvodním textu, např.

- str. 7, první věta: Významné vědecké objevy v oblasti fyziky, chemie a biologie, získané v průběhu uplynulých dvou dekad, vyvolaly...
- str. 7: Zajímavostí je, že nanotechnologie, konkrétně plasmonové nanočástice zlata a stříbra, stojí za dichroickými vlastnostmi Lykurgova poháru...
- str. 9: Právě poslední zmíněná aplikace, tedy využití materiálů pro vazbu a transport biologicky aktivních látek pro biomedicínské aplikace, tvoří jednotící myšlenku předložené habilitační práce.

Další „typing errors“:

- str. 10: „Tento tzv. efekt zvýšeného průniku a zadržování (EPR z anglického Enhanced Permeation and Retention), poprvé popsáný v roce 1986 týmem profesora Hiroshiho Mayedy...“
- str. 27: „antisens-oligonukleotidy“ – mělo by být raději „antisense“

Závěr:

Na základě posouzení předložené habilitační práce Mgr. Zbyňka Hegera, Ph.D. doporučuji přijetí této habilitační práce jako podklad pro habilitační řízení a na jejím základě doporučuji udělit Mgr. Zbyňku Hegerovi, Ph.D. titul docent v oboru Biochemie.

V Brně dne 30. 10. 2020

Prof. RNDr. Šárka Pospíšilová, Ph.D.

Prorektorka Masarykovy univerzity
Centrum molekulární medicíny CEITEC MU
Ústav lékařské genetiky a genomiky LF MU
Interní hematologická a onkologická klinika LF MU a FN Brno