

## OPONENTSKÝ POSUDEK

doktorské disertační práce PharmDr. Ireny Netíkové „Biologická diverzita buněk karcinomu mléčné žlázy ve vztahu k citlivosti na protinádorovou léčbu“

V úvodu recenze si dovolím glosu, proč jsem - při své experimentálně farmakologické erudici - přijal oponenturu cytologicky zaměřené práce. Vyprovokovala mě k tomu znalost badatelského růstu dr. Netíkové prakticky od jejích vysokoškolských let a respekt nad její houževnatostí a schopností vytvořit si osobnostní vědecký profil v nepříliš snadných podmínkách jejího mateřského pracoviště, tj. v rutinním provozu „cytostatické laboratoře nemocniční lékárny“.

K předmětu disertace:

Práce je částí širší - týmově řešené - výzkumné koncepce, koordinované institucí, která převzala nad postgraduálním studiem disertantky patronát (společné výzkumné pracoviště Klinické laboratoře biologie nádorů 1. pražské lékařské fakulty a Ústavu molekulární genetiky AV). Řešitelská aktuálnost vyplývá z jasně a z konkrétně definovaného výzkumného cíle: diagnosticky (na modelových buněčných kulturách nádorových buněk karcinomu mléčné žlázy) přispět k individualizaci chemoterapie cytostatiky.

K formě zpracování:

Textová část (celkem 101 stran) je tříděna klasickým způsobem, tj. na literární přehledný úvod a zdůvodnění záměru (26 stran + 102 citací), na popisy použitých metodik (9 stran), na popis dosažených výsledků a na jejich dokumentaci formou tabulek, grafů a fotografií (37 stran) a na diskusi a závěry (11 stran). Součástí disertačního spisu je příloha dvou publikací „in extenso“ v impaktovaných periodících, jejichž je disertantka spoluautorkou (na jedné je na prvním místě autorského kolektivu). Autoreferát je zpracován koncisně a má obecněji směřovaný informační náboj (jeho určitou vadou na kráse je, že není opatřen seznamem zkratk, což ztěžuje orientaci širší odborné veřejnosti, které je autoreferát především určen).

Vlastní posouzení:

Experimentální realizace mají promyšlený etapovitý design. Úvodní fáze byly logicky zaměřeny na testační ověřování heterogenity nádorových buněk z hlediska jejich citlivosti a rezistentnosti vůči modelově voleným cytostatikům. Byl přítom konfrontován biologický materiál získaný z klinických biopsií vůči definované a v dané laboratoři ověřené buněčné linii („brest cancer progenitor“). V následné fázi šlo o testování účinnosti výběru cytostatických lékových reprezentantů a jejich kombinací v daných buněčných kulturách, přičemž hodnocenými parametry byly viabilita buněk, maligní potenciál buněčné populace a imunocytochemické parametry. Interpretace výsledků této etapy (retrospektivní posouzení „pouze částečných korelací na několika konkrétních klinických vzorcích“ a nemožnost hodnotit regenerační potenciál u rezistentnějších buněčných frakcí použitou technologií „MTT-testu“) se staly odrazovým můstkem pro pokus vypracovat originální metodu, autorským kolektivem nazvanou „NTCA = nedestruktivní test buněčné aktivity“. Jeho přínos spočívá v tom, že zatímco MTT-test není sto odhalit další perspektivu buňky, např. apoptózu (sledování končí vysrážením markeru tetrazoliové soli na nerozpustný - spektrofotometricky detekovatelný - formazan), umožňuje NTCA-test dlouhodobější sledování po expozici s cytostatikem a detailněji tak charakterizovat buněčnou viabilitu. Sama tato metodická originalita a experimentální ověření její validity je vysvědčením o účelnosti posuzovaného výzkumu.

Mezi jednoznačné klady disertace patří:

- přesně vymezený cíl výzkumného záměru a adekvátní nasměrování literární rešerše,
- relativně detailní popis metodických údajů,
- šíře sledovaných parametrů (jejich realizace autorka chvályhodně přesně ohraničila: co je její experimentální autorství a co použila z rutinního měření spolupracovníků),
- exaktnost výsledkové dokumentace,
- úroveň diskusních argumentací (jak vůči cílům práce tak vůči literárním údajům),
- střizlivost shrnutých závěrů,
- vytríbená a srozumitelná čeština (což nebývá mezi současnými mladými vědeckými adepty samozřejmostí),
- pečlivost věnovaná bezchybnosti rukopisu a jeho grafickému uspořádání.

Dotazy:

Jak se autorka vypořádala s problémem interakcí buněčných kultur s těmi cytostatiky, které nejsou ve vodném prostředí příliš solubilní?

Nebylo by vhodné nakazit autorce profesionálně blízké odborníky trochou farmakokinetiky? Narážím tím na převzatý literární údaj „ppc = peak plasma concentration“. Po mimocévním podání xenobiotika nemůže jít o „hrot“ krevní hladiny látky, ale o její  $C_{max}$  v rámci tzv. „steady state fáze“, kdy dochází k vyrovnání míry absorpce látky s mírou její biodistribuce a s mírou její bioeliminace.

Autorka kriticky správně konstatuje nemožnost aplikovat v práci použité „in vitro“ metodologie na testování cytostatik typu „pro-drugs“. Nebylo by možné v těchto případech odebrat nevelké vzorky krve od pacientů těmito látkami léčených a po extrakci účinných metabolitů (techniky jsou známé a většinou dostupné) otestovat na buněčných kulturách jejich efektivitu (ať již metabolitů samotných nebo v kombinacích)?

Závěr:

Svou disertační prací řešila dr. Netíková aktuální onkologicko-cytologické výzkumné téma s cílem přispět „in vitro“ technikami k prognostickému odhadování individualizované cytostatické farmakoterapie. Prokázala v ní, že zvládá adekvátní metodologie (včetně schopnosti jejich dalších invenčních inovací), že dosažené výsledky dokáže zpracovat a interpretovat. S potěšením proto doporučuji oborové radě udělit PharmDr. Ireně Netíkové vědeckou hodnost Ph.D.

V Hradci Králové 2. 8. 2007

Prof. RNDr. Dr.h.c. Jaroslav Květina, DrSc.