

Posudek disertační práce

Nanočástice s modifikovaným povrchem v léčbě závažných onemocnění CNS

Předkládaná disertační práce Mgr. Dany Marekové je věnována vývoji kultivačních systémů buněk glioblastomu, vývoji nanočástic vhodných pro různé typy medicínských aplikací a ověření účinnosti těchto nanočástic v modelu glioblastomu *in vitro* a *in vivo*. Téma disertační práce je velmi aktuální a významné. Nanočástice s upraveným povrchem představují slibný způsob, jak zacílit léčivo na nádorovou tkáň a zvýšit účinnost léčby, multifunkční teranostické částice lze současně využít jako kontrastní značky při *in vivo* zobrazování. Výzkum biologických účinků nově vyvíjených nanočástic je nezbytnou součástí tohoto procesu. Jako výzkumný model byl zvolen glioblastom, jenž patří k nejagresivnějším a nejobtížněji léčitelným nádorům.

Práce sleduje širokou škálu parametrů vztahujících se k izolaci a charakterizaci buněčných linií, buněčné proliferaci a smrti, k angiogenezi a k tumorigenezi *in vivo*. Doktorandka zvládla celou řadu metodických přístupů, které vhodně využila k danému cíli. Zcela v souladu se současným směrem výzkumu je také využití 3D buněčných kultur jako modelu, který lépe reprezentuje situaci *in vivo* než 2D techniky kultivace. V rámci práce doktorandka izolovala řadu primárních buněčných linií a charakterizovala je v různých podmínkách kultivace *in vitro* i v xenograftových modelech. Prokázala vliv způsobu kultivace na fenotyp buněk glioblastomu a zavedla systém sféroidů vhodný jako testovací platforma pro účely personalizované medicíny. Z výsledků mimo jiné vyplývá, že tento systém je vhodný i pro buňky s fenotypem CD133⁺. Tyto buňky byly schopné tumorigeneze v imunodeficitních myších, což je významné zjištění, protože souvislost tohoto důležitého markeru s klonogenicitou a tumorigenicitou u glioblastomu není zcela objasněná. V části práce věnované nanočásticím autorka prokázala vysokou protinádorovou účinnost doxorubicinu vázaného pH-senzitivní hydrazonovou vazbou na superparamagnetické částice oxidu železa. Tento účinek byl ještě posílen navázáním cílicího RGDS peptidu na částice. Dále se autorka věnovala nanočásticím založeným na feritu manganu a zinku jako kontrastním látkám pro *in vivo* zobrazování a případnému základu teranostických částic. Pomocí TEM potvrdila přítomnost těchto částic v buňkách a pomocí bioluminiscence a MR i jejich přítomnost v pokusných zvířatech, a to i při relativně nízkých koncentracích částic ve srovnání s komerčně dostupnými nanočásticemi na bázi oxidu železa.

Po formální stránce práce odpovídá požadavkům na disertační práci. Je zpracována velmi čtivě a pečlivě (pouze na str. 39 chtěla autorka pravděpodobně uvést „transdukce onkogenu pomocí CRISPR/Cas9“) a doplněna o přehledná schémata a obrazovou dokumentaci. Teoretický úvod a diskuse jsou podpořeny 114 citacemi a svědčí o dobré orientaci doktorandky v dané problematice. Práce je založena na 4 původních výzkumných pracích publikovaných v impaktovaných časopisech, se souhrnným IF = 10,79, doktorandka je dále první autorkou nebo spoluautorkou 5 původních prací se souhrnným IF = 19,79.

K práci mám následující dotazy:

1. Autorka zmiňuje inverzi metabolismu jako možné vysvětlení posunu od migrace k proliferaci mezi primárními buňkami a buňkami z xenograftů (str. 98). Jaké metabolické děje má konkrétně na mysli?
2. Buňky pro transplantace byly po vyjmutí z dusíku znovu charakterizovány pomocí průtokové cytometrie (str. 49). Uchovaly si buňky po rozmražení původní charakteristické markery nebo docházelo k nějakým významnějším změnám fenotypu?
3. MZF magnetické nanočástice byly u BM-MSC buněk nalezeny pouze v cytoplazmě, případně v endozomálním / lyzozomálním kompartmentu, nikoli v jádře (Obr. 29). Pozorovali jste to i u buněk glioblastomu? Ovlivňuje nukleární lokalizace toxicitu těchto nanočástic?
4. Jaké vlastnosti by měla mít ideální teranostická částice a které částice jsou doposud nejbližší k naplnění tohoto ideálu?

Závěrem lze konstatovat, že disertační práce Mgr. Dany Marekové zcela splnila vytčené cíle. Tato práce spolu s publikační aktivitou doktorandky mě opravňují k prohlášení, že doktorandka prokázala schopnost samostatné vědecké práce. Proto doporučuji, aby po úspěšné obhajobě disertační práce byl Mgr. Daně Marekové udělen titul Ph.D.

V Hradci Králové, 8.2. 2022

doc. RNDr. Věra Králová, Ph.D.

Univerzita Karlova, Lékařská fakulta v Hradci Králové

Ústav lékařské biologie a genetiky