

## OPONENTSKÝ POSUDEK DISERTAČNÍ PRÁCE

**Téma disertační práce:** „Kryokonzervační metody ve výrobě léčivých přípravků moderní terapie“

**Studentka:** Mgr. Miroslava Jandová

Disertační práce, kterou autorka **Mgr. Miroslava Jandová** předkládá, se zabývá problematikou využití různých kryokonzervačních metod v procesech:

- zpracování základní suroviny (kostní dřev a periferní krev) pro výrobu léčivých přípravků moderní terapie
- skladování léčivého přípravku na bázi multipotentních mesenchymálních stromálních buněk (MSC) za podmínek kompatibilních s SVP.

Dalším dílím projektem je ověření procesu odmývání kryoprotektiva DMSO a vliv této procedury na kvalitu buněčné suspenze pro autologní transplantaci periferních progenitorových buněk u pacientů s primární amyloidózou nebo u mnohočetného myelomu doprovázeného sekundární amyloidózou. V poslední části práce se autorka zaměřila na geneticky modifikované přípravky moderní terapie, kde se jedná o navržení a praktické ověření způsobu skladování a transportu suroviny pro výrobu skladování a transportu finálního léčivého přípravku.

Úvod do problematiky je sepsán v dostatečném rozsahu, kdy se čtenář dobře seznámí s tématem.

Práci autorka vypracovala na pracovišti Tkáňová ústředna ve Fakultní nemocnici v Hradci Králové (FNHK) a na Lékařské fakultě Univerzity Karlovy v Hradci Králové v rámci kombinovaného studia ve studijním oboru Anatomie, histologie a embryologie.

Předložená práce má rozsah 114 stran odborné části, v seznamu citací použité literatury je uvedeno 195 citací, z toho 144 citací zahrnuje původní práce a monografie, 47 elektronických zdrojů, zbytek tvoří právní předpisy a normy.

Dílčí část práce proběhla v rámci klinické studie EUDRA CT 2016-00926-21 za podpory grantu TAČR.

Na autorku mám několik doplňujících otázek:

1. V textu úvodu jsou zmíněny počty pacientů léčených implantací buněk KD do myokardu a v počty pacientů zařazených do specifického léčebného programu léčby chondrálních

defektů aplikací kultivovaných chondrocytů na nosiči. Dále jsou uvedeny počty pacientů zařazených do studie EUDRA CT 2016-00926-1, u nichž byla provedena experimentální kryokonzervace léčivého přípravku moderní terapie (LPMT). V tabulce 2 jsou uvedeny další studie provedené ve FNHK s LPMT tuzemských a zahraničních výrobců. Počty zařazených pacientů však u těchto studií uvedeny nejsou. Může tyto počty autorka upřesnit?

2. Na straně 34 je jako důvod ukončení slibně se rozvíjejícího programu transplantace chondrocytů při léčbě chondrálních defektů v roce 2013 uvedena nutnost hradit náklady na pojištění pacientů zařazených do studie. Je tento aspekt limitujícím faktorem i dnes?
3. V kapitole 1.6.1 se autorka zabývá použitím kryoprotektiva DMSO a možnostmi jeho náhrady. V metodických částech uvádí použití tohoto kryoprotektiva v kombinaci s hydroxyethylškrobem (preparát Voluven). Je autorce známo, že Evropská komise nedávno doporučila členským státům odnětí registrace pro léčivé přípravky obsahující HEŠ a určené k infuzní léčbě? Má autorka rozmyšleno náhradní řešení pro případ, že by v ČR bylo toto doporučení skutečně realizováno?
4. V kapitole 1.7 se autorka zabývá nároky na skladování kryokonzervované základní suroviny z hlediska bezpečnosti, tj. udržení doporučené teploty a prevencí křížové kontaminace. Výhodou kryokonzervace základní suroviny je nepochybně možnost časného odběru buněk a jejich skladování po měsíce až léta před zasláním k výrobě. Může autorka doložit, že s použitím uvedeného způsobu skladování lze zajistit kryostabilitu skladovaných produktů buněčné terapie na několik let?
5. Na straně 51 je uveden vzor štítku pro označení kryokonzervované základní suroviny určené pro autologní použití obsahující jednotný evropský kód. Má toto značení nějaký význam pro výrobce LPMT a pro kontrolu při příjmu finálního produktu ve zdravotnickém zařízení? Projeví se v označení finálního produktu? Tato informace není v práci uvedena.
6. V části věnované vlivu odmytí DMSO na klíčové parametry krvetvorných buněk došla autorka k výsledku, že proces odmytí vede ke snížení životnosti mononukleárních buněk a snížení procenta CD34+ buněk, zatímco výtěžnost CFU-GM nebyla ovlivněna. Je autorce známo, zda se tato okolnost projevila na prodloužení engraftmentových časů?

7. V části věnované skladování hotových geneticky modifikovaných léčivých přípravků pro moderní terapii dokládá autorka splnění podmínek výrobců na skladovací teploty při skladování v kryoskladu ve FN Hradec Králové a během transportu na klinické oddělení. Má autorka rovněž doklad o tom, že tyto podmínky byly splněny i během transportu od výrobce do FNHK? Je splnění těchto podmínek předmětem kontroly při převímce těchto přípravků?
8. V části věnované rozmrazování a aplikaci LPMT nejsou uvedeny objemy rozmrazovaných přípravků. Může je autorka doplnit? Jaké je zatížení pacienta DMSO ve srovnání s transplantací minimálně manipulovaných krvetvorných buněk?
9. V diskusi na str. 108 uvádí autorka argumenty pro centralizaci výroby LPMT. Existují naopak nějaké důvody pro zachování decentralizované výroby LPMT? Pokud ano, v jakých případech?

Závěr:

Vzhledem k tomu, že předložená disertační práce po formální stránce splňuje všechny náležitosti a požadavky kladené na disertační práce, **d o p o r u č u j i práci k obhajobě.**

.....  
**Mgr. Lucie Stříbrná, Ph.D.**

Katedra biologických a biochemických věd

Fakulta chemicko – technologická

Univerzita Pardubice

Studentská 573

532 10 Pardubice