

## Oponentský posudek

Dizertační práce:

### **Studium interakce nově vyvíjených radiofarmak s biologickým systémem na buněčné úrovni.**

Autor práce : Mgr. Pavel Bárta, Univerzita Karlova v Praze, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové, Katedra farmakologie a toxikologie.

Oponent: prof.RNDr. Rudolf Štětina, CSc. Fakulta vojenského zdravotnictví, Katedra toxikologie, Hradec Králové.

Předložená práce má celkem 109 stran textu včetně pěti obrázků, pěti odborných článků publikovaných ve vědeckých časopisech a jednoho článku zasláného do tisku. Práce se věnuje studiu interakce vybraných receptorově specifických, radioaktivně značených peptidů a protilátek s receptory na nádorových buněčných liniích, s hlavním zaměřením na možnosti hodnocení interakcí ligandu s receptorem in vitro. K tomu byla použita i nově zavedená technika. V případě receptorově specifických protilátek byly studovány faktory ovlivňující jejich chování v živých systémech.

Předložená práce je zaměřena na receptorově specifické peptidy, respektive tzv. peptidové analogy, které jsou odvozeny od tělu vlastních peptidových hormonů. Tyto analogy jsou připravovány s cílem vylepšení jejich biologických vlastností z hlediska jejich biodistribuce a ochrany před degradací. Peptidový analog nesoucí cytotoxin, nebo radioizotop, může být využit jak pro terapii, tak pro diagnostické účely.

Práce si kládla za cíl také studovat využití některých monoklonálních protilátek, které má, podobně jako u peptidových analogů, diagnostický účel. Navíc, u protilátek jde rovněž o terapeutický efekt, který spočívá v zablokování přenosu signálu z receptoru na efektorové proteiny, a tím k zablokování buněčné odpovědi.

V úvodní části práce autor udává velmi dobře zpracovaný přehled problematiky, bohatě podložený citovanými literárními údaji o současných znalostech využití analogů peptidů a protilátek v diagnostice a terapii nádorů. Tato část práce přesvědčivě dokládá hloubku autorových znalostí problematiky, s jakými k řešení problému přistupoval. Autor přehledně popisuje také použité metody a uvádí schémata postupu studia interakce ligandu s receptorem.

Základem práce je pět článků publikovaných v prestižních zahraničních časopisech.

První článek je věnován nové alternativní metodě pro kvantifikaci buněčných receptorů (metoda KEX). Tato metoda se ukázala jako vhodná alternativa používané saturační techniky, a to při nižší náročnosti na čas a materiál.

Druhý článek přináší zjištění, že struktura minigastrinu 11 nebyla narušena radioaktivním značením. Byla zjištěna také minimální akumulace značeného minigastrinu do ledvinných buněk, což může ukazovat na nízké riziko nefrotoxicity.

Třetí publikovaná práce přináší zásadní poznatky o vlivu gefitinibu na interakci EGF a EGFR. Byl popsán vliv dimerizace receptorů na afinitu EGF k EGFR u různých buněčných linií. Tuto dimerizaci indukuje gefitinib a tak mění interakci s EGF.

Ve čtvrtém článku autor zjistil, že vazebná afinita testovaného ligandu na HER receptor se může mezi buněčnými liniemi značně lišit.

V páté publikaci byla nová metoda KEX porovnána s klasickou saturační metodou. Výsledky porovnání počtů EGFR byly velmi blízké u pěti testovaných buněčných linií a navíc dobře korelovaly s výsledky stanovení exprese receptorů měřené western-blottingem.

Šestý článek shrnuje vliv radioaktivního značení na afinitu protilátky nimotuzumab k EGFR. Volba radionuklidu měla velmi malý vliv na afinitu protilátky na EGFR u testovaných buněčných linií, avšak viditelně ovlivnila clearance z krve a akumulaci v játrech v pokusech in vivo.

Výsledky práce jsou publikovány v časopisech s tvrdým recenzním řízením, takže na práci lze jen těžko hledat nějaké nedostatky. Přesto bych autorovi práce rád položil následující otázky:

- 1) Co je známo o struktuře EGFR, její odlišnosti u jednotlivých buněčných linií, eventuálně jeho mutacích, a vlivu těchto odlišností na vazebnost EGF?
- 2) Je něco známo o expresi EGFR během buněčného cyklu? Jaký by mohla mít vliv takováto variabilita exprese na rozdíly mezi jednotlivými buněčnými liniemi?

Předložená disertační práce obsahuje výsledky publikované v prestižních mezinárodních vědeckých časopisech, což jasně dokládá jejich kvalitu a význam pro obor molekulární farmakologie.

Z výše uvedených skutečností jasně vyplývá, že předložená práce zcela splňuje náročné podmínky pro udělení hodnosti PhD. Autor zvládl řadu náročných experimentálních metod při využití různých biologických modelů (specifických buněčných linií) a přesvědčivě prokázal i svoji schopnost tyto metody samostatně uplatnit při řešení náročných vědeckých problémů v rámci mezinárodní spolupráce. Prokázal schopnost kritického hodnocení svých výsledků v kontextu s nejnovějšími poznatky o struktuře a funkci studovaných receptorů. Proto doporučuji, aby Mgr. Pavlu Bártovi byl udělen titul philosophiae doctor.

V Hradci Králové dne 1.9.2012

prof. RNDr. Rudolf Štětina, CSc.