

OPONENTSKÝ POSUDEK DISERTAČNÍ PRÁCE

Název: Mechanismy membránového transportu radioaktivně značených receptorově specifických peptidů v ledvinách

Autor: PharmDr. Marie Volková

Předložená disertační práce se zabývá studiem mechanismů určujících farmakokinetiku radioaktivně značených receptorově specifických peptidů. Jejich objasnění může vést k optimalizaci diagnostických a terapeutických postupů v klinické praxi oboru nukleární medicíny.

Cílem práce bylo objasnit úlohu vybraných mechanismů pro transport radioaktivně značených peptidů a posoudit možnosti minimalizace radiotoxických účinků značených látek při průchodu ledvinami během jejich vylučování. K tomu byly využity metody *in vitro* i farmakokinetické studie radiopeptidů *in vivo*.

Disertační práce je rozdělena do 9 částí. V úvodu autorka seznamuje s předmětem zkoumání, kdy se zaměřila na systémové *in vivo* chování vybraných radiometabolitů a na *in vitro* modelech posuzovala účast jednotlivých membránových transportních mechanismů. Do studie zahrnula peptidy ze skupiny derivátů somatostatinu, gastrinu a bombesinu

Teoretická část, je rozdělena do pěti oblastí. Přehled neuroendokrinních peptidů použitelných pro nádorovou diagnostiku a terapii v nukleární medicíně, včetně jejich limitací. Vývoj a modifikace struktur pro jejich optimalizaci s ohledem na účinné radioaktivní značení pro sledování biodistribuce a eliminace peptidů s možností jejich rizikové kumulace v ledvinách. Popis transportních mechanismů radiopeptidů v ledvinách.

V experimentální části jsou popsány použité metody a materiály včetně přístrojů, chemikálií i buněčných linií a značení peptidů luteciem-¹⁷⁷Lu s hodnocením jejich radiochemické čistoty. Součástí experimentu jsou transportní studie *in vitro* a farmakokinetické studie *in vivo* v laboratorních potkanech. Údaje získané v experimentální části jsou zpracovány statistickou analýzou.

Výsledky experimentů zahrnující validace buněčných modelů a transport radiopeptidů buněčnými membránami *in vitro* a akumulace v buňkách a buněčných liniích jsou přehledně znázorněny graficky. Farmakokinetické studie představující biodistribuci radioaktivně značených peptidů luteciem-¹⁷⁷Lu jsou uspořádány tabelárně.

Diskuse je v této disertační práci velmi cenným nástrojem pro orientaci v dané problematice a osvětluje nejasnosti a podmínky pro řešení problematiky výzkumu, vývoje a přípravy radiofarmak s cílenou biodistribucí pro oblast imunodiagnostiky a imunoterapie. Diskuse srovnávající získané výsledky publikované v disertační práci se opírá o nejnovější citace zahraniční literatury z renomovaných pracovišť. Tato výborně vedená diskuse svědčí o velmi dobré znalosti problematiky řešené v disertační práci.

Závěr disertační práce je formulován přehledně a poskytuje informace o záměru, provedení a rozsahu experimentální činnosti a nové údaje o transportních mechanismech radioaktivně značených peptidů, které by v nukleární medicíně mohly sloužit jako radiofarmaka v oblasti značených peptidů pro radioterapii závažných onemocnění.

V použité literatuře je uvedeno 203 položek týkajících se řešené problematiky, které mohou sloužit i dalším vědeckým pracovníkům v této oblasti.

Seznam publikovaných vědeckých a odborných prací v 10 zahraničních časopisech s IF, v nichž je disertantka první autorkou nebo spoluautorkou ukazuje na její schopnost vědecké práce, což potvrzuje i 11 prezentací na zahraničních i domácích vědeckých konferencích.

V příloze jsou 2 *in extenso* odborné publikace disertantky s tematikou disertační práce zveřejněné v zahraničních časopisech s IF.

Součástí posudku disertace je několik připomínek a dotazů pro autorku:

K získaným výsledkům nelze uplatnit více drobných výhrad či poznámek, neboť je autorka prakticky všechny zodpověděla v podrobné a vyčerpávající diskusi. Tu vedle velkého množství provedených experimentů považují za stěžejní část předložené disertace.

K pravopisu chemických a biochemických sloučenin uváděných v textu disertace:

Správné, závazné názvosloví, které by mělo být v textu: sacharosa, glukosa, methyl, methanol, peptidasa, lipasa, fosfatasa, cyklasa, urokinasa, insulin.

Radioaktivní sloučeniny: U β zářičů doporučuji přesnější označení, v tomto případě β^- . Při kvantitativním vyjádření je vhodnější namísto slova radioaktivita termín aktivita a místo specifická radioaktivita termín hmotnostní aktivita. Používat i platné jednotky SI, např. Becquerel (Bq) místo Curie (Ci), rovněž rozpad radioaktivních látek vyjadřovat přesněji jako jejich přeměnu.

Závěrečné dotazy k disertanci:

V teoretické části disertace (str. 11) se u receptorově zprostředkované terapie uvádí, že internalizovaný komplex receptor-ligand se v nádorové buňce degraduje a vylučuje se na její povrch. Dá se rychlost tohoto procesu, vzhledem k předpovědi účinnosti léčby, předpovědět?

U radioaktivně značených peptidů (str. 21) je uveden mezi diagnostickými radionuklidy fluor- ^{18}F . Jaké jsou možnosti značení Vámi testovaných peptidů tímto radionuklidem nebo dalšími PET radionuklidy?

Proč byli samci potkanů pro biodistribuční studii (str. 58) rozděleni podle hmotnosti do dvou skupin?

V diskusi (str. 82) je zvažována existence různých možností transportu radiopeptidů do ledvinných buněk. Existují vedle zkoumaných cest ještě nějaké další potenciální možnosti, jak by peptidy mohly vstupovat do těchto buněk?

Disertační práce obsahuje 115 stran textu s 14 tabulkami a 35 obrázky a přílohou s odbornými publikacemi autorky. Práci doplňuje užitečný seznam použitých zkratk.

Předložený spis disertační práce hodnotím jako velmi zdařilý, je napsán přehledně, srozumitelně a s velmi dobrou grafickou úpravou. Teoretická i experimentální část obsahuje mnoho cenných vědeckých informací z oblasti řešené problematiky a jistě bude zdrojem informací při dalším výzkumu v této oblasti. Provedení mnoha náročných experimentů a zpracování velkého množství výsledků ukazuje na autorčinu velmi dobrou orientaci v řešené problematice a získanou zkušenost ve vědecké práci.

Závěr:

Předloženou disertační práci hodnotím jako přínosnou pro oblast vývoje nových radioaktivních léčiv. PharmDr. Marie Volková prokázala schopnost samostatně řešit vědecké problémy, pracovat s odbornou literaturou, poznatky aplikovat do experimentální práce a z dosažených výsledků formulovat závěry pro další výzkumnou činnost v této oblasti ve vědním oboru Farmakologie a toxikologie. Předložený spis jednoznačně splňuje z hlediska všech kritérií požadavky kladené na práce tohoto typu. Doporučuji proto disertační práci k obhajobě a po jejím úspěšném obhájení pak udělení titulu Ph.D.

V Praze, 14.12.2015