



CHARLES UNIVERSITY
Faculty of Pharmacy
in Hradec Králové

Oponentský posudek doktorské disertační práce

Studium originálních ftalocyaninových fotosensitizerů na buněčné úrovni

autorky Mgr. Marie Halaškové

Obor: Xenobiochemie a patobiochemie

Oponent: doc. RNDr. Jakub Hofman, Ph.D.

Katedra farmakologie a toxikologie, Farmaceutická fakulta, Univerzita Karlova

Posuzovaná disertační práce je koncipována jako komentovaný soubor tří publikací a jednoho manuskriptu, které jsou zaměřeny na vývoj a studium nových ftalocyaninových fotosensitizerů. Autorka ji sepsala v českém jazyce, přičemž lingvistická úroveň je vysoká a vyskytuje se minimální počet překlepů a nesprávných formulací (např. ve vodním prostředí). Rovněž z vědeckého pohledu je práce bezesporu kvalitní a reflektuje velmi dobrou orientaci Mgr. Halaškové v tématu fotodynamické terapie (PDT) (výjimečně se objevují nesrovnalosti v návaznosti na použití neaktuálního odkazu, např. že Tookad je zkoumán pro léčbu nádorů, tato látka je přitom již několik let schválena, nebo naopak je uvedeno, že látky SGX₃₀₁ a LUZ₁₁ jsou schválena pro PDT, na trh ale zatím uvedeny nebyly). Práce obsahuje všechny závazné oddíly, jednotlivé kapitoly jsou klasicky členěny a jsou vedeny v logickém uspořádání. V teoretickém úvodu autorka vysvětluje princip PDT se zohledněním biologických i fyzikálně-chemických aspektů. Podrobněji se věnuje typům buněčné smrti. Dále popisuje výhody a nevýhody této léčebné strategie, mechanismy účinku v rámci onkologického užití a milníky klinických aplikací. Navazuje cíli práce, komentáři k publikacím/manuskriptu a zdařilou souhrnnou diskusi. Práci uzavírají kapitoly závěry, přehled publikací včetně podílu autorky, prezentace na konferencích a samozřejmě přílohy ve formě publikací/manuskriptu.

Téma PDT je aktuální a kontinuálně se posouvá od více méně neselektivních fotosensitizerů první generace k chytrým molekulám umožňujícím cílenou distribuci. Systematickým studiem autorka spolu s kolektivem pomohla popsat rozdíly mezi fotodynamickou aktivitou kationických vs. anionických ftalocyaninových fotosensitizerů a vliv různých chemických substituentů. Detailně popsala biologické aspekty vyvíjených substancí, včetně indukovaných morfologických změn, typu a dynamiky buněčné smrti, distribuce a redistribuce do/z buněčných organel a interakcí s biologickými membránami a plasmatickými bílkovinami. V rámci přiloženého manuskriptu pak studovala možnost využití amfifilních ftalocyaninů pro světlem řízené uvolňování léčiv z liposomů, jmenovitě doxorubicinu. Práce jako celek přinesla hodnotné výsledky, které mohou být využity při designu a vývoji nových fotosensitizerů. Vysokou kvalitu výsledků recipročně odráží kvalita

časopisů, v nichž byly publikovány. Všechny práce byly otištěny v časopisech renomovaných nakladatelství, přičemž prvoautorské publikace připadají do Q1 a Q2 časopisů a spoluautorská dokonce do D1. Manuskript je v recenzním řízení v Q1 periodiku. Dle prezentovaného přehledu se Mgr. Halašková signifikantně podílela na generování všech publikovaných prací, jen je poněkud zvláštní, že u prvoautorských publikací neuvádí svůj podíl na sepisování.

Pro diskusi během obhajoby disertační práce navrhuji tyto následující dotazy:

- 1) Jak sama uvádíte, úsilí vynaložené při vývoji nových fotosenzitizérů se zdaleka ne úměrně odráží v počtu schválených léčiv. Např. v onkologické oblasti je v EU schváleno jen pár léčiv, přičemž většina byla uvedena na trh kolem roku 2000. Mohla byste trochu podrobněji diskutovat faktory, o nichž si myslíte, že jsou rozhodující pro tento nesoulad?
- 2) Jedním z mechanismů PDT v onkologické oblasti může být destrukce cévního zásobení nádoru. Nemůže být tento mechanismus nebezpečný z pohledu vysokého rizika vzniku trombů a následných ischemických příhod? Prokázalo se toto riziko v nějakých *in vivo* studiích?
- 3) Uvádíte, že cílené působení PDT na cévy může vést ke kompenzačnímu zvýšení angiogeneze. Z farmakologického pohledu by tedy teoreticky mohla být vhodná kombinovaná terapie pomocí fotosenzitizérů a VEGFR inhibitorů (např. axitinib, lenvatinib aj.). Byla tato hypotéza již studována? Pokud ano, jaké byly výsledky?
- 4) Velmi se mi líbí koncept využití fotosenzitizérů jako zprostředkovatelů cíleného (světlem řízeného) uvolnění léčiva z liposomů v místě farmakodynamického účinku. Jak daleko je tato strategie od klinického využití? V jakých oblastech mimo onkologie by mohla najít využití?
- 5) Podobně se mi zamlouvá koncept třetí generace fotosenzitizérů, který kombinuje tyto molekuly s „chytrými“ nosiči či epitopy umožňujícími cílenou distribuci. Takový přístup může výrazně vylepšit bezpečnost PDT. Je vývoj třetí generace fotosenzitizérů zatím plně v experimentální rovině nebo již dochází ke klinickému testování? Pokud dochází, o jaké aplikované cílicí prvky se jedná?

Závěrem je možné konstatovat, že svou doktorskou prací Mgr. Halašková dokládá rozsáhlé teoretické i praktické znalosti v oblasti hodnocení biologických vlastností fotosenzitizérů, a to včetně schopnosti prezentovat získaná data ve formě kvalitních vědeckých publikací a příspěvků na konferencích. Předloženou práci hodnotím jako velmi hodnotnou vědeckou studii, která plně splňuje požadavky kladené na disertační práci. Vzhledem k těmto skutečnostem doporučuji, aby práce byla přijata k obhajobě a zároveň navrhuji, aby po jejím úspěšném absolvování byl Mgr. Marii Halaškové udělen akademický titul doktor ve zkratce Ph.D.