

## Oponentský posudek

Disertační práce Mgr. Zuzany Pokorné

### Antracyklinová kardiotoxicita a studium nových farmakologických kardioprotektiv

Disertační práce Mgr. Zuzany Pokorné je koncipována jako komentovaný soubor 3 původních prací (2 prvoautorských) zaměřených na problematiku kardiotoxicity. První část je zaměřena na experimentální analýzu kardiotoxicity proteazomových inhibitorů, samostatně nebo v kombinaci s antracykliny (ANT). Další dvě části se zabývají (potenciálními) kardioprotektivními účinky inhibitoru angiotenzin konvertujícího enzymu (ACEi) a dexrazoxanu (DEX). Ve všech případech se jedná o komplexně pojaté studie s velkým rozsahem experimentálních postupů (králičí model, izolace kardiomyocytů, histologická analýza srdce, invazivní hemodynamika levé komory, kvantitativní real-time PCR, Western blot, stanovení proteazomové aktivity, stanovení cTnT, stanovení topoizomerázové aktivity) a zpravidla kombinací *in vitro* (primární kardiomyocyty izolované z novorozenců a dospělých potkanů) a *in vivo* (králičí model ANT kardiotoxicity) experimentů. Disertační práce působí homogenně, všechny tři komentované práce spojuje centrální téma ANT kardiotoxicity, které je v práci popsáno a vysvětleno srozumitelným a přehledným způsobem.

Členění vlastní dizertační práce o 121 stranách (z toho 59 stran přílohy původních prací) odpovídá koncepci komentovaného souboru prací. Po obsahu, seznamu použitých zkratk a souhrnu následuje úvodní kapitola, která čtenáře seznamuje s problematikou antracyklinů a antracyklinové kardiotoxicity a je rozčleněna na 3 oddíly. Po objasnění chemické struktury, klinického nasazení, mechanismů protinádorového účinku a farmakokinetiky v prvním oddílu následuje oddíl věnovaný ANT kardiotoxicitě, který postupně představuje mechanismy vzniku ANT kardiotoxicity: od historicky nejčastěji citované hypotézy oxidačního poškození myokardu přes TOP2B-dependentní poškození myokardu po dysregulaci ubikvitin-proteazomového systému. Podrobně jsou rovněž rozebrány rizikové faktory přispívající k rozvoji ANT kardiotoxicity a rizika kombinace antracyklinů s dalšími protinádorovými léčivy (trastuzumab a proteazomové inhibitory). V posledním oddílu úvodu jsou podrobně rozebrána opatření k omezení ANT kardiotoxicity s důrazem na možnosti farmakologické kardioprotekce antioxidanty a chelátory železa, dexrazoxanem a léčivy pro neurohumorální blokádu u chronického srdečního selhání (především ACEi a  $\beta$ -blokátory).

Po představení cílů disertační práce (kardiotoxický potenciál proteazomových inhibitorů, kardioprotektivní účinky ACEi, mechanismus kardioprotektivního účinku DEX) následuje výsledková část, kterou tvoří 3 původní publikace, 2 prvoautorské, 1 spoluautorská, doplněné komentářem autorky. V první práci bylo zjištěno, že proteazomové inhibitory (bortezomib a karfilzomib) vykazují jen velmi omezené známky kardiotoxicity a rovněž nezvyšují riziko ANT kardiotoxicity. V druhé práci byl sice nalezen významný kardioprotektivní účinek ACEi v období rozvoje chronické kardiotoxicity, ale tento účinek byl pouze dočasný a při následném sledování pokusných zvířat významně slábnul. Naproti tomu, kardioprotektivní účinek DEX studovaný ve třetí práci byl dlouhodobý a robustní, pravděpodobně díky odlišnému mechanismu účinku: DEX zřejmě působí hlavně prostřednictvím katalytické inhibice TOP2B v kardiomyocytech. Na závěr každého komentáře je podrobně popsán příspěvek studentky na dané studii, ve všech případech je její příspěvek bezesporu významný.

Celá problematika je následně podrobně diskutována (Diskuse, 10 str.) v kontextu aktuálního světového písemnictví se zdůrazněním prioritních výsledků studií, které jsou součástí disertační práce. Diskuse výsledků je dostatečně podrobná a svědčí o hlubokém porozumění studované problematice, schopnosti vlastní interpretace výsledků a jejich zařazení do širšího kontextu současného vědeckého poznání. Literární rozhled autorky potvrzuje 157 citací uvedených v seznamu citací použité literatury.

Všechny 3 studie byly úspěšně publikovány v renomovaných impaktovaných časopisech (1x D1, 2x Q1), což dostatečně dokládá jejich kvalitu a novost. 2 dřívější publikace již zaznamenaly citační ohlas (z r. 2019: 5 citací, z r. 2021: 4 citace). Vedle těchto tří publikací, na kterých je založena dizertační práce, se Mgr. Pokorná spoluautorsky podílela na dalších 4 impaktovaných publikacích (všechny Q1), které s centrálním tématem kardiotoxicity rovněž souvisejí.

Zvolené téma dizertační práce je dle mého názoru vysoce aktuální. Antracykliny zůstávají důležitou součástí protinádorové léčby a ANT kardiotoxicita tak stále představuje závažný klinický problém. Poznání patofyziologických mechanismů ANT kardiotoxicity s cílem jejich regulace a potlačení je nezbytným předpokladem zlepšení terapeutických možností. Zvolené experimentální metody byly adekvátní řešením problémům, jedná se vesměs o náročné moderní postupy, které jsou zpravidla velmi pracné, náročné na provedení i interpretaci včetně dlouhodobých chronických experimentů. Přínos výsledků pro další rozvoj oblasti je zřejmý, autoři významně přispěli k detailnímu poznání mechanismů ANT kardiotoxicity a mechanismů kardioprotekce. Poznatky autorů významně přispívají k zásadní změně paradigmatu, kdy původní vedoucí hypotéza ANT-navozeného poškození myokardu oxidačním stresem je postupně nahrazována topoizomerázovou hypotézou s dominantní úlohou TOP2B-dependentního poškození myokardu. Získané poznatky jsou důležité nejen z pohledu (pato)fyzologie a farmakologie, ale i translační a klinické medicíny, kdy přispívají k nalezení optimálních režimů kardioprotekce u protinádorové léčby antracykliny. Stanovené cíle disertační práce byly beze zbytku naplněny.

K formálnímu zpracování nemám výtek, práce je napsána kultivovanou češtinou (pokud dokážu posoudit) a je téměř bez chyb a překlepů. Je zřejmé, že jejímu pečlivému zpracování byla věnována značná pozornost.

Na závěr bych si dovolil položit několik doplňujících dotazů a komentářů k diskusi:

Jak si vysvětlujete krátkodobý charakter účinku PI na CT-L aktivitu proteazomu, resp. rychlost zotavení proteazomové aktivity (do 24 hodin po podání PI)? Zejména u ireverzibilního karfilzomibu?

Jaké jsou příčiny pouze přechodného charakteru kardioprotektivního účinku ACEi? Považujete za možné prodloužení tohoto kardioprotektivního účinku ACEi? Testovali jste účinky kombinace ACEi a inhibice TOP2B?

Považujete za možné, že se dysfunkce topoizomerázového systému uplatňuje i u jiných než ANT-dependentních forem chronického srdečního selhání? Je topoizomerázový systém ovlivněn např. stárnutím organismu?

Králičí model ANT kardiotoxicity je dobře zavedený a klinicky relevantní model. Co považujete z hlediska translační medicíny za jeho slabé stránky?

**Závěr:**

**Předložená disertační práce splňuje všechny zákonné požadavky a prokazuje předpoklady autorky k samostatné vědecké práci. Doporučuji proto po úspěšné obhajobě udělit Mgr. Zuzaně Pokorné akademický titul Ph.D.**

V Plzni, 19. srpna 2022

Prof. MUDr. Milan Štengl, Ph.D.