

## Oponentský posudek doktorské disertační práce Mgr. Jana Cihla

### "Studium transportních mechanismů receptorově specifických radiofarmak v ledvinných buňkách"

Předložená doktorská disertační práce Mgr. Jana Cihla zapadá do komplexního a dlouhodobého studia biologického chování receptorově specifických radiofarmak prováděného na katedře farmakologie a toxikologie FaF UK. Radioaktivně značené protilátky a peptidy mají nezastupitelný význam v diagnostice a léčbě mnoha závažných nádorových onemocnění. Velký problém ale představuje vychytávání těchto látek v ledvinách a s tím spojená radionefrotoxicita.

Vlastnímu popisu experimentální práce předchází kvalitně zpracovaný literární úvod, kde je uveden přehled radioaktivně značených protilátek a peptidů s možnostmi jejich diagnostického a terapeutického uplatnění. Část zde uvedených informací byla v roce 2008 publikována ve formě přehledového článku v časopise "Česká a slovenská farmacie". Následuje opět velmi dobře a čtivě napsaná pasáž o nefrotoxicitě radiofarmak s cílenou distribucí a možnostech farmakologické protekce.

Hlavním cílem práce pak bylo navrhnout a vypracovat vhodný buněčný model ke studiu mechanismů vychytávání radiofarmak v ledvinách. K tomuto účelu byla na základě literární rešerše vybrána linie OK odvozená z buněk proximálního tubulu ledviny vačice americké. Vlastní experimenty kvantifikující intracelulární kumulaci látek byly provedeny nejprve s fluorescenčně a radioaktivně značeným albuminem a poté se sérií vybraných radioaktivně značených peptidů (analogů somatostatinu) a protilátek. Všechny studované látky byly radioaktivně značeny předkladatelem práce a byla také analyticky ověřena jejich požadovaná radiochemická čistota. Výsledky *in vitro* internalizačních experimentů byly porovnány s daty získanými v pokusech na celém zvířeti, kde ale bylo při sledování kumulace radiofarmak do ledvin dosaženo v mnoha ohledech odlišných výsledků.

Práce má po formální stránce dobrou úroveň; je přehledná, napsaná jasným slohem a doložená kvalitní obrazovou a tabulkovou dokumentací. Velký přínos této studie spatřuji zejména coby první krok k zavedení nových *in vitro* experimentálních metodik v oddělení radiofarmak FaF UK, které vhodně doplňují a rozšiřují již dlouhodobě prováděné pokusy v podmínkách *in vivo*.

K prezentovaným výsledkům mám následující dotazy či náměty pro diskusi:

1. U některých internalizačních experimentů je uvedeno, že byly provedeny v Krebs-Ringerově roztoku. Bylo tomu tak u všech pokusů? Jaký byl důvod tohoto výběru inkubačního média?
2. Množství internalizovaných látek bylo vztahováno na množství proteinu v lyzátu. Jaký to mělo důvod, když bylo do všech jamek nasazováno stejné množství buněk? Jaké byly

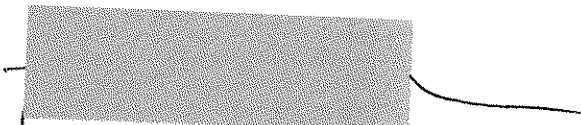
pozorovány rozdíly v množství proteinu u jednotlivých pokusů? Byla pozorována/stanovována toxicita studovaných radiofarmak na OK buněčnou linií (stejně jako v případě inhibitorů), případně vliv látek na adhezivitu buněk?

3. U některých grafů (např. obr. 45, 49, 51) není uveden počet opakování ani chybové úsečky. Pokud se jedná o data z jediného experimentu, mělo by to být uvedeno s poznámkou, že jde o pilotní výsledky.

4. Interpretaci některých výsledků (např. experimentů s potenciálními inhibitory megalinu / cubilinu) by zkvalitnila statistická analýza dat. Některé termíny použité v diskusi - např. "určité snížení", "určitý rozdíl", "významný rozdíl" nebo "snižovaly ... pouze nevýznamně" (vše str. 121) jsou bez stanovení statistické signifikance vágní a nepřesné.

## **Závěr**

Oponovaná práce Mgr. Jana Cihla splňuje požadavky kladené na disertační práci. Je dílem obsahujícím původní experimentální výsledky, z nichž část byla uveřejněna formou publikace v mezinárodním recenzovaném časopise s impact factorem "Anticancer Research", kde je předkladatel práce prvním autorem. Doporučuji proto přijmout doktorskou disertační práci Mgr. Jana Cihla jako podklad k udělení vědeckého titulu Ph.D.



Doc. PharmDr. Tomáš Šimůnek, Ph.D.

Katedra biochemických věd FaF UK

V Hradci Králové, 27. dubna 2009