

## **Oponentský posudek**

### **na dizertační práci**

**RNDr. Milady Šírové**

## **IMMUNOPROTECTIVE CHARACTER OF POLYMER CYTOTOXIC DRUGS**

Školitelka: Prof. RNDr. Blanka Říhová, DrSc.

Předložená dizertační práce je vypracována na vysoce aktuální téma a je koncipována jako soubor 10 původních prací publikovaných ve významných zahraničních vědeckých časopisech (Journal of Controlled Release; Pharmaceutical Research; Cancer Immunology Immunotherapy) doplněný úvodem, cíli dizertační práce, komentářem k dosaženým výsledkům a seznamem použitých literárních zdrojů.

Úvod shrnuje současné poznatky o chemoterapii rakoviny, uvádí nové přístupy k jejímu zefektivnění, charakterizuje selektivní nízkomolekulární protinádorová léčiva, léčiva směřovaná ligandem jako jsou imunotoxiny, imunokonjugáty, radioimunoterapeutika, protilátkami řízená terapeutika s enzymem a proléčivem, vysokomolekulární lékové transportní systémy a z nich zejména proléčiva založená na HPMA nesměrovaného i směrovaného typu. Okrajově jsou zmíněny i jiné systémy, např. dendrimery, lipozomy, emulze, pevné lipidové nanosféry, micely a samovolně se formující nanočástice a polymerové nanočástice. Tato kapitola cituje 299 literárních zdrojů z poslední doby.

Experimentální práce se soustřeďuje na polymerní léčiva s HPMA, jejichž testováním se pracoviště dlouhodobě zabývá a dosahuje v této oblasti vynikajících výsledků. Léčiva byla syntetizována v Laboratoři biomedicinních polymerů Ústavu makromolekulární chemie AVČR, se kterou Mikrobiologický ústav úzce spolupracuje. Pro dizertační práci M. Šírové byly stanoveny čtyři dílčí cíle, tj. (i) přispět k pilotní klinické studii pacientek s generalizovaným karcinomem mléčné žlázy a testovat aktivitu přirozených zabíječských buněk; (ii) studovat protinádorovou aktivitu konjugátu HPMA s doxorubicinem a lidským imunoglobulinem navázaným prostřednictvím tetrapeptidové spojky GLFG (Dox<sup>AM</sup>- PHPMA – HuIg), který byl navržen pro klinickou studii na experimentálním myším nádorovém modelu (lymfomu EL4, karcinomu mamy 4T1 a dalších); (iii) přispět k preklinickému vývoji

konjugátu HPMA s doxorubicinem s vazbou citlivou na pH, ověřit účinnost *in vivo*, sledovat vliv připojení dalších skupin (pozitivně či negativně nabitých nebo hydrofobních) na fyzikálně chemické i biologické vlastnosti proléčiva; (iv) ověřit protinádorovou účinnost HPMA konjugátů s paklitaxelem nebo docetaxelem navázaným hydrazonovou vazbou.

Metodika, tj. syntéza a charakterizace připravených léčiv je popsána v citovaných publikacích, postupy testování účinnosti protinádorových léčiv na myších modelech a provedení pilotní klinické studie jsou uvedeny v publikacích tvořících součást dizertační práce.

Cíle dizertační práce se podařilo splnit v plném rozsahu:

- (i) HPMA konjugát s doxorubicinem a lidským intravenózním imunoglobulinem testovaný v klinické studii u pacientek s generalizovaným karcinomem prsu zlepšil klinický stav, kvalitu života a byl velmi dobře snášen. Hodnoty řady nádorových markerů se posunuly k normálním hodnotám. Výsledky byly publikovány ve dvou článcích v J. Control. Rel. v létech 2002 a 2003.
- (ii) Konjugát HPMA s doxorubicinem a lidským imunoglobulinem navázaným prostřednictvím tetrapeptidové spojky GLFG (Dox<sup>AM</sup>- PHPMA – HuIg) prokázal významnou protinádorovou aktivitu u několika dobře vyvinutých nádorů u myši; u významného počtu z nich se dosáhlo úplného vyléčení a vývoje rezistence proti danému nádoru. Zjistilo se, že předpokladem výrazné aktivity proléčiva je funkční imunitní systém. Výsledky byly zveřejněny v roce 2007 v Cancer Immunol. Immunother. s uchazečkou jako první autorkou.
- (iii) Preklinické studie biologických vlastností HPMA konjugátů s léčivem navázaným pH-senzitivní vazbou vedly k vývoji proléčiva s vysokou účinností, významnou terapeutickou bezpečností a schopností úplného vyléčení vyvinutých nádorů. Substitucí postranních řetězců různými skupinami bylo možné ovlivnit fyzikálně chemické i biologické vlastnosti léčiva. Výsledky byly publikovány v 5 publikacích v létech 2005 – 2010 v J. Control. Rel. a Pharm. Res.; v posledním článku s M. Šírovou opět jako první autorkou.
- (iv) HPMA konjugáty s hydrofobními léčivými látkami paklitaxelem a docetaxelem navázanými hydrazonovou pH-senzitivní vazbou vedly k získání proléčiv s dobrou rozpustností ve vodě a s významnou protinádorovou aktivitou u myšičího T

lymfomu (EL4) a mamárního karcinomu (4T1) s úplnou regresí nádorů a vývojem protinádorové rezistence. Výsledky byly odeslány formou článku do časopisu Mol. Pharm.

Dizertační práci uzavírá seznam literárních zdrojů a seznam publikací, jichž je uchazečka spoluautorkou.

## **Hodnocení**

Dizertační práce RNDr. Milady Šírové je zpracována na vysoké odborné úrovni na téma velmi aktuální a potřebné. Je nepochybně přínosem k rozvoji nejen imunologie, ale také bezpečnosti a efektivity farmakoterapie jako celku. K práci samotné nemám žádné připomínky. K autoreferátu bych si dovolila jednu poznámku: na str. 3 i jinde se objevují poněkud krkolomné výrazy „systémy dopravující léčiva“ nebo „doprava léčiva do zvolených cílových tkání“. Bylo by vhodnější použít ve farmacii běžně používané odborné termíny „transportní lékový systém“ a „cílená biodistribuce léčiva (proléčiva)“.

K úvodu práce mám na uchazečku následující dotaz: Znáte i jiné pH-senzitivní vazby, než uvádíte v dizertační práci, používané např. u polymerních nanočástic nebo lipozomů?

Vzhledem k časně publikační aktivitě včleněné do dizertační práce bych se ráda zeptala na začátek doktorského studijního programu RNDr. Šírové. Publikace z pilotní studie (cíl 1) jsou z let 2002 a 2003, tj. z výsledků před osmi a více roky.

## **ZÁVĚR:**

Z publikační aktivity RNDr. Milady Šírové i z její dizertační práce je zřejmé, že uchazečka jednoznačně splňuje kritéria požadovaná pro udělení titulu Ph.D.

Doktorandka prokázala dizertační prací hluboké teoretické znalosti sledované problematiky i schopnost a připravenost samostatně tvořivě vědecky pracovat. Získaly se nové vědecké poznatky důležité pro další rozvoj vědy a použitelné v medicínské praxi. Po úspěšné obhajobě dizertační práce doporučuji doktorandce udělit vědecko-akademickou hodnost "philosophiae doctor" ve vědním oboru imunologie.

V Brně 4. 8. 2010

Doc. PharmDr. Miloslava Rabišková, CSc.

oponentka dizertační práce

