

Posudek na dizertační práci **Mgr. Jarmily Mlčouškové** s názvem
„Biophysical analysis of mechanisms underlying antitumor effects of new anticancer drugs“

Předložená dizertační práce vznikla na Katedře biofyziky, Přírodovědecké fakulty Univerzity Palackého v Olomouci pod vedením školitele prof. RNDr. Viktora Brabce, DrSc.. Práce o rozsahu 58 stran textu včetně obrázků, schémat a seznamu použité literatury je rozčleněna na kapitoly *Úvod* (o rozsahu 13 stran), *Cíle práce* (1 strana), *Použité chemikálie a metody* (10 stran), *Výsledky a diskuze* (10 stran), *Závěr* (1 strana) a *Seznam literatury* (113 referencí). Přílohu práce pak tvoří kopie tří rukopisů, zaslaných do redakcí časopisů *Journal of Inorganic Biochemistry*, *Journal of Biological Inorganic Chemistry* a *Biochimica et Biophysica Acta*, na jejichž základech je práce postavena, a které však již byly zveřejněny (*J. Inorg. Biochem.*, 114 (2012) 15; *J. Biol. Inorg. Chem.* 17 (2012) 891; *BBA* 1820 (2012) 1502). Z podrobnějšího studia výše uvedených kapitol, konkrétněji však kapitoly popisující cíle práce (strana 24) je zřejmé, že definované cíle práce jsou ve značném rozporu s názvem/tématem práce, neboť z reálných protinádorových léčiv bylo cílem studovat pouze DNA vazebné schopnosti a cytotoxicitu karboplatiny po její fotoaktivaci (cíl č. 3), zbývající cíle 1 a 2 se týkají studia protinádorově aktivního komplexu označeného v práci jako AMPZ, který však není zavedeným protinádorovým léčivem. Na straně 26 pak v obrázku č. 8 autorka prezentuje přehled 5 komplexů platiny (z nichž 2 jsou zavedenými protinádorovými léčivy) studovaných v rámci PhD práce, což je pro čtenáře značně matoucí, dezorientující a současně degradující kontext práce. V kapitole *Úvod*, popisující cisplatinu a její analoga, jsou pak uvedena historická fakta související s mechanismem účinku těchto sloučenin a možností souvisejících se zlepšením jejich protinádorových schopností. Tato část textu je psána vcelku přehledně, i když se autorka dopustila řady formálních i faktických chyb. Např. strana 12, obrázek 2 - hydrolyzovaný komplex cisplatinu s H_2O^+ je chybný (i když je převzatý z citované literatury); strana 13, obrázek 3 – která z uvedených struktur je určena pomocí NMR ?; strana 19 – chybné názvy pro satraplatinu a picoplatinu; strany 19, 21, 24, atd. – zkratka AMPZ je matoucí, neboť je vztažena pro komplex obsahující obecně azolátový můstek, jindy pro komplex s můstkem tvořeným pyrazolem, navíc zkratka AMPZ nevyjadřuje komplex samotný, ale pouze komplexní kation. Vzhledem k tomu, že je práce psaná v angličtině (pozn.: pro mě osobně z ne moc pochopitelných důvodů), měl by být někde v textu uvedený správný název komplexní sloučeniny označované jako AMPZ, tedy $[\mu\text{-hydroxido-}\mu\text{-(pyrazolato(1-)-}\kappa N, \kappa N')\text{-bis(diammineplatinum)}(II)]$ nitrate. Obecně řečeno, psaní názvů vzorců komplexů platiny je nejednotné, v mnohém v rozporu s platnými názvoslovnými pravidly dle IUPAC. Název kapitoly 1.4.1. na straně 19 s názvem *Synthesis of new platinum drugs* je zavádějící, neboť tato kapitola nepopisuje žádnou syntézu. Na straně 22, poslední věta kapitoly 1.4.3. hovoří o zvýšení cytotoxicity transplatinu po ozáření nádorových buněk UVA zářením s odkazem na referenci 71, kde vlastní práce pak nese název *Transplatin is cytotoxic when photoactivated*. Není tedy zcela zřejmé, co vlastně bylo fotoaktivováno, jestli pouze transplatina nebo samotné nádorové buňky nebo „směs“ transplatinu a nádorových buněk. V této souvislosti se naskýtá otázka, zda-li navýšení cytotoxicity transplatinu nesouvisí s energetickou bariérou mezi *cis* a *trans* geometrií zmiňovaného komplexu, tedy

s izomerizačním přechodem *trans* → *cis*, což by mohlo být jednou z příčin uvedeného. Zajímá mě názor doktorandky na zmíněný komentář.

V kapitole 4 (*Výsledky a diskuze*) doktorandka koncentruje výsledky a jejich diskuzi, a kapitola tak reprezentuje zkrácený kompilát údajů zmíněných v příložených rukopisech. Překvapující je absence tabulek, obrázků a schémat, které by čtenáři výrazně zjednodušily orientaci v textu. V obecné rovině lze konstatovat, že předloženou PhD práci je možné hodnotit jako hybrid mezi klasickou formou a komentářem k dosaženým a opublikovaným výsledkům, a to hlavně vzhledem k rozsahu PhD práce. V kapitole 4.3.1. na str. 44 je uvedený postup vedoucí k objasnění interakčního módu karboplatiny za využití záření z UVA a VIS oblastí spektra. V souvislosti s tímto bych se chtěl dotázat, zda byly hodnoceny také vzorky s ozářeným roztokem DNA a neozářeným roztokem karboplatiny, případně ozářeným roztokem karboplatiny a neozářeným roztokem DNA jako kontroly? Je známo, že UVA i UVB záření (záleží na dávce a vlnové délce) může způsobovat oxidaci dusíkatých bází, transversní GC-AT mutace a především tvorbu *interstrand cross-links* mezi pyrimidinovými bázemi, které vedou ke změně konformace molekuly DNA a tím mohou napomáhat nejen ke vzniku dalších vazeb s karboplatinou, ale také molekulu DNA částečně ochránit před reparačními mechanismy, např. ovlivnit vazbu rekogničních proteinů HMGB1 nebo XPA. Pojem *fotoaktivaná karboplatina* se proto v kontextu výše uvedeného může jevit jako nevhodně zvolený termín, neboť ve skutečnosti byla prováděna fotoaktivace „směsi“ karboplatina + DNA. Vhodnějším popisem by mohlo být např. *aplikace záření na ovlivnění vazby a biologických účinků karboplatiny při interakcích s DNA*.

Jak je patrné nejen z publikovaných prací, doktorandka zvládla relativně značné množství mnohdy excelentních experimentálních metod biofyzikálního výzkumu týkajících se interakcí mezi malými molekulami (především potenciálními protinádorovými léčivy na bázi platiny) a DNA, které jsou zavedené a rutinně používané v rámci výzkumné skupiny prof. Brabce. Jistá míra spisovatelské rutiny a slangu, tentokrát míněno v negativním slova smyslu, však pronikla i do textu předložené dizertační práce, který se tak stává místy pro čtenáře, který není specialistou v oboru, velmi těžko srozumitelným.

Závěrem lze konstatovat, že předložená PhD práce, a to i přes relativně nízký publikační výstup (pouze 3 impaktované publikace), splňuje podmínky kladené na disertační práci, a proto ji **doporučuji** k obhajobě. Současně si však dovoluji požádat, aby autorka v průběhu obhajoby adekvátně reagovala na výše uvedené dotazy či připomínky.

Prof. RNDr. Zdeněk Trávníček, PhD.
(oponent)

Olomouc, 20.8.2012