

**UNIVERZITA KARLOVA**  
**FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ**

Katedra farmakologie a toxikologie

Studijní program: Farmacie

**Posudek oponenta diplomové práce**

Autor/ka práce: **Lukáš Slatinský**

Vedoucí/školitel/ka práce: Doc. PharmDr. Martina Čečková,  
Ph.D.

Rok obhajoby: 2018

Konzultant/ka práce:

Oponent/ka práce: RNDr. Jakub Hofman, Ph.D.

Název práce:

**Interakce vybraných protinádorových látek ze skupiny inhibitorů MAPK/ERK  
signalizační kaskády s ABC lékovými transportéry**

---

Rozsah práce: počet stran: 56, počet obrázků: 24, počet tabulek: 5, počet citací: 71

Práce je: experimentální

- a) Cíl práce je: zcela splněn
- b) Jazyková a grafická úroveň: výborná
- c) Zpracování teoretické části: výborné
- d) Popis metod: výborný
- e) Prezentace výsledků: velmi dobrá
- f) Diskuse, závěry: velmi dobré
- g) Teoretický či praktický přínos práce: výborný

Doporučuji diplomovou práci k uznání jako práci rigorózní

Případné poznámky k hodnocení: V předložené diplomové práci se autor věnuje farmakokinetickým interakcím dabrafenibu a kobimetinibu s ABC efluxními lékovými transportéry a možnosti jejich využití pro překonání mnohočetné lékové rezistence. Práce je psána v českém jazyce, je logicky členěna. Jazyková úroveň je poměrně vysoká, pouze místy se vyskytují nesprávné výrazy, překlepy se prakticky nevyskytují. Metodický a experimentální rozsah práce je mírně nadstandardní, výsledky jsou pečlivě popsány a odpovídajícím způsobem diskutovány. Celková úroveň práce je vysoká. Po obsahové ani grafické stránce k práci nemám žádné zásadní výhrady, mám pouze několik připomínek a dotazů.

Dotazy a připomínky:

Připomínky:

- 1) Na straně 6 uvádíte, že "některé látky ze skupiny CDKi mají schopnost tyto transportéry inhibovat". Citujete práci Hofman et al., 2016, která se zabývá substrátovou afinitou na modelu potkaní placenty.
- 2) V legendě k obrázku 8 nejsou vysvětleny některé zkratky (např. není jasné, co znamenají zkrácené výrazy CCND1, DUSP, SPRY).
- 3) Na straně 25 uvádíte, že firma Selleck je německá. Selleck je prodejce americký, v Německu má jako distributora firmu Absource Diagnostics.

- 4) V případě popisu buněčných kultur (5.1.2) bych uvítal detailnější informace, a to o zj. o tom, zda byla při kultivaci využívána antibiotika, zda byly využité linie testovány na přítomnost mykoplazmat a jaká byla maximální použitá koncentrace DMSO.
- 5) V popisu akumulčně-efluxní metodiky je uvedeno, že jste přidával 10 ul 8 uM roztoku Hoechst 33342. 8 uM je koncentrace finální, nikoliv koncentrace přidávaného roztoku.
- 6) Uvádění hodnoty p pro příslušný počet hvězdiček by mělo pružně reagovat na reálný počet hvězdiček v daném grafu. V práci máte ve všech legendách k obrázkům, kde se statistická analýza prováděla, uvedenou hodnotu p pro 1 a 3 hvězdičky, a to i u grafů, kde se statistická významnost neprokázala. Naopak v několika grafech máte 2 hvězdičky, příslušná hodnota p však v legendě chybí. Další významnější chybou související se statistickou analýzou je neuvedení toho, s jakou hodnotou analyzovaná data srovnáváte.
- 7) U obr. 15, 16, 17, 18 a 19 používáte odlišný způsob prezentace dat. Není to přímo faktická chyba, ale vhodnější by bylo využít relativní akumulaci pro všechny grafy. U grafů 16 - 19 se na ose x vyskytuje výraz inhibitor, který bych nahradil přímo názvem příslušné látky.
- 8) V experimentech hodnotíte modulační efekt 10 uM dabrafenibu (Obr. 21). Tato koncentrace však již sama o sobě vyvolává cca padesátiprocentní pokles viability použitých buněk (Obr. 23). Zdánlivé zcitlivění buněk v tomto případě není možné přiřknout inhibici transportéru, celkové zhodnocení situace navíc komplikuje fakt, že nejsou prezentována data pro parentní linii.
- 9) Na základě dat prezentovaných v obrázku 24 bych si netroufal odhadovat hodnotu IC50 pro ABCB1 linii s ohledem na to, že nejnižší dosažená viabilita je jen lehce pod 50% a křivka navíc nevykazuje klasické sigmoidální chování. Správné však není ani tvrzení, že "dabrafenib zde nevykazoval antiproliferační aktivitu".
- 10) Na straně 43 spekulujete, že statisticky nevýznamné vyšší hodnoty IC50 u transdukovaných linií by mohly naznačovat, že na studované TKi by mohla vzniknout rezistence zprostředkovaná transportéry. To se nejvíce jako moudré tvrzení, protože Vám toto nepotvrdila statistická analýza. Dále je potřeba si uvědomit, že IC50 studovaných TKi na transdukovaných liniích byly pouze cca o 20% vyšší než na linii parentní, přičemž pro studovaná cytostatika (mitoxantron, daunorubicin), jakožto známé oběti mnohočetné lékové rezistence, jsou tyto hodnoty v řádu 500 - 1000%.
- 11) V diskusi rozebíráte pravděpodobnost klinické významnosti Vašich výsledků s ohledem na doporučení ITC. Uvádíte, že "hodnota IC50 dosažená in vitro musí být alespoň 10x větší než hodnota cmax". Pro správnou interpretaci je místo slova "alespoň" uvést slovo "nanejvýš". Tato zdánlivě malicherná chyba v překladu způsobuje nesprávnost všech závěrů prezentovaných v prvních dvou odstavcích na str. 48.

Dotazy:

- 1) V úvodu teoretické části zmiňujete, že pacienti s nádory kolorekta mají díky rozvinutému zdravotnictví dobrou prognózu. Je to pravda pro všechna stádia nemocí?
- 2) U experimentů sledujících schopnost studovaných TKi překonat cytostatickou MDR chybí data pro parentní linii. Tato data slouží jako kontrola umožňující definitivně přiřknout případné zcitlivění transdukované linie efektu inhibice studovaného transportéru (viz. připomínka 9). Prováděli jste experimenty na parentní linii? Pokud ano: (I) jaké byly výsledky a (II) pokud došlo k určitému posunu proliferační křivky i u parentních buněk, jaké možnosti Vám to naznačuje?
- 3) Vaše data nenaznačují, že by studované TKi byly obětmi MDR zprostředkované transportéry, přitom je ale z literatury známo, že substráty transportérů jsou (kobimetinib pouze pro ABCB1, dabrafenib pro ABCB1 i ABCG2). Je metoda, kterou jste pro tyto studie využil, plně spolehlivá? Jaká jsou její omezení? Jakou jinou alternativní metodu byste pro určení substrátové afinity a specifity použil?

**Celkové hodnocení, práce je: výborná, k obhajobě: doporučuji**

V Hradci králové dne 31.5.2018

.....  
podpis oponentky / oponenta