

UNIVERZITA KARLOVA
FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ
Katedra biochemických věd

Studijní program: Zdravotnická bioanalytika

Posudek oponenta diplomové práce

Autor/ka práce: **Bc. Jaroslav Milan**

Vedoucí/školitel/ka práce: Prof. Ing. Vladimír Wsól, Ph.D.

Konzultant/ka práce: RNDr. Eva Novotná, Ph.D.

Rok obhajoby: 2019

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

Název práce:

Vliv inhibice midostaurinu, vistusertibu a talazoparibu na aktivitu vybraných reduktas z nadrodiny AKR a SDR

Rozsah práce: počet stran: 87, počet obrázků: 21, počet tabulek: 17, počet citací: 68

Práce je: experimentální

- a) Cíl práce je: zcela splněn
- b) Jazyková a grafická úroveň: velmi dobrá
- c) Zpracování teoretické části: velmi dobré
- d) Popis metod: výborný
- e) Prezentace výsledků: výborná
- f) Diskuse, závěry: výborné
- 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 vlivu vybraných inhibitorů tyrozinkináz na aktivitu pěti lidských enzymů z nadrodiny AKR a SDR a možnosti využití interakce midostaurinu s AKR1C3 pro ovlivnění antracyklinové rezistence. Práce je až na drobné výjimky logicky členěna, jazyková úroveň je poměrně vysoká, vyskytuje se minimum překlepů. Místy se vyskytují nepřesné nebo hůře čitelné a pochopitelné pasáže. Obsah teoretické části je v souladu s obsahem části experimentální. 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) V abstraktu se vyskytuje termín *ex vivo* pro úroveň buněčných linií, tento termín je akceptovatelný pro buňky pouze v případě primárních kultur. Úroveň kvality anglického překladu abstraktu je nízká.
- 2) V úvodu by mohly být použity vhodné citace. Informace, že se interakce sledovaly s osmi enzymy není správná.
- 3) V práci místy zazní formulace, které nejsou zcela správné, popř. jsou správné pouze částečně a občas jsou věty ne zcela přesné a hůře pochopitelné. Text teoretické části také místy působí jako pouhé "chrlení informací" bez jasně nastavené linie a návazností. Tato

skutečnost je sice mínusem, na druhou stranu odráží fakt, že práci student sepsal samostatně, čehož si cením.

3) V sekci "Vývoj protinádorových léčiv" jsou nepřesnosti. Vývoj těchto léčiv neprobíhá pouze 3 dekády, ale mnohem déle. Chronologie jednotlivých testů je prohozená. Pro pravidla zařazení subjektů do klinického zkoušení je použita citace z roku 1987.

4) Místy nejsou dodržena pravidla pro citování. Na str 20/21 je hned několik zásadních poznatků přebráno z jedné experimentální práce, kde jsou zmíněny v introduction. Tyto jednotlivé poznatky by měly být citovány za použití původních zdrojů.

5) V textu je často využit termín inhibitor bez další specifikace. Rovněž název sekce 2.3 ve formě "Inhibitory" je zvláštní - autor přebíhá od významu inhibice enzymové, přes inhibici buněčného růstu po inhibici farmakodynamických cílů, přičemž dále jasně mívá k inhibitorům tyrosinkináz.

6) V textu jsou některé anglické výrazy, které lze jednoduše nahradit českým výrazem (např. DNA crosslinks, pro-drug).

7) Midostaurin není jediným FDA-schváleným FLT3 inhibitorem, jak je uvedeno na str. 26. V listopadu 2018 byl schválen druhý zástupce z této skupiny, gilteritinib. U talazoparibu bych uvítal zmínku o terapeutické indikaci.

8) Zařazení miRNA pod epigenetické mechanismy není správné (str. 39). Expresí miRNA může být epigeneticky regulována, ale pod epigenetický mechanismus sama nespadá.

9) Diskuse výsledků na přelomu stran 68/69 by měla být prezentována jako samostatný odstavec pod vlastním názvem. V prezentované formě text vizuálně působí tak, že spadá pod sekci 5.2.3.

10) V popisu metodik jsou určité nedostatky. Příprava rekombinantních enzymů je pouze zmíněna, ale není popsána, přičemž chybí odkaz na literaturu. Není uveden exaktní popis přípravy XTT roztoku. V tabulce 10 je chybně uvedena jednotka koncentrace (u místo uM) a uvedené ředění je pro jednotlivé koncentrace prohozené. U některých přístrojů chybí uvedení konkrétních modelů.

11) U obr. 21 není (přes zjevnou snahu toto objasnit) jasné, co je s čím porovnáváno v rámci statistické analýzy. Není uveden typ statistického testu. Obecně v celé experimentální části chybí informace o počtu nezávislých experimentů a biologických replikátů.

Dotazy:

1) Na str. 13 uvádíte, že enzymy redukující karbonylovou skupinu se podílejí na detoxikaci xenobiotik. Je tomu tak vždy nebo existují i opačné případy?

2) Na str. 53 píšete, že jste nasazoval přibližně 20 000 buněk na jamku. Co se skrývá pod termínem přibližně? Jak jste nasazování prováděl?

3) Aktivita AKR1C3 v obr. 14 je asi 5x nižší než u souvisejících obr. 13 a 15? Dokážete toto vysvětlit?

4) Podle jakého klíče jste vybírali enzymy pro testování? Existují ještě nějaké další enzymy s popsanou rolí v metabolismu antracyklinů?

5) Midostaurinem zprostředkované zcitlivění buněk KG1a vůči daunorubicinu (obr. 21) připisujete inhibici AKR1C3, k pozorovanému jevu však může přispívat více dějů. Jakým způsobem byste Vaši hypotézu potvrdil?

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

V Hradci Králové dne 28.5.2019

.....
podpis oponentky / oponenta