



UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE
FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ

500 05 Hradec Králové, Heyrovského 1203, Česká republika, <http://www.faf.cuni.cz>
tel. +420495067111, fax +420495518002

OPONENTSKÝ POSUDEK

dizertační práce Mgr. Lukáše Červeného „Interakce vybraných antiepileptik s efluxními lékovými ABC transportéry a nukleárními receptory“

Charakterizace dizertační práce

Námětem předložené dizertační práce bylo experimentální studium potencionální úlohy vybraných membránových efluxních transportérů při vzniku rezistence na léčbu antiepileptiky a posouzení interakcí antiepileptik s vybranými nukleárními transkripčními receptory, které regulují biotransformaci a transport xenobiotik. Při řešení problematiky bylo použito několika experimentálních modelů na buněčné úrovni a k charakterizaci funkce vybraného transportéru bylo použito akumulčních a transportních testů. Pro studium interakcí antiepileptik s nukleárními receptory bylo v práci použito širokého komplexu molekulárně-biologických metod.

Dizertační práce v rozsahu 72 stran je tvořena úvodem a souborem textů čtyř prací, které byly publikovány v odborných vědeckých časopisech. Jedná se o tři práce experimentálního charakteru v anglickém jazyce a o jednu práci typu review, která byla publikována v českém odborném tisku. Všechny experimentálně zaměřené práce byly uveřejněny v impaktovaných časopisech. V případě dvou z uvedených publikací je předkladatel hlavním autorem, u ostatních spoluautorem.

Souboru publikovaných prací je předřazena úvodní kapitola, která pojednává o základních poznatcích v oblasti farmakologie epilepsie a o problematice interakcí antiepileptik s efluxními lékovými transportéry. Dále jsou v teoretické části uvedeny současné údaje o interakcích kyseliny valproové s konstitutivním androstanovým receptorem a pregnanovým X receptorem.

V další části úvodu je vymezen cíl dizertační práce a podíl předkladatele na provedených experimentálních pracích a jednotlivých publikacích. V závěru předložené dizertační práce je také připojen souhrn získaných poznatků v českém a anglickém jazyce.

Zhodnocení dizertační práce

Téma dizertační práce plně odpovídá oboru a lze je pokládat za velmi relevantní, neboť poznání procesů, které determinují hladiny antiepileptik v mozku, má nejen poznávací, ale může mít v budoucnosti i praktický význam pro léčbu pacientů s epilepsií.

Úvodní část práce stručně a přehledně shrnuje současné poznatky v dané oblasti. K vypracování tohoto teoretického úvodu bylo použito více než 100 publikací, z nichž většina je z posledních 5 let včetně několika prací z roku 2007. Literární přehled je psán fundovaně a srozumitelně, bez závažných formálních nedostatků.

Cíle práce jsou definovány jasně a následovně:

- posoudit úlohu efluxního membránového BCRP transportéru při vzniku rezistence vůči vybraným antiepileptikům
- zjistit inhibiční či stimulační potenciál vybraných antiepileptik na transport zprostředkovaný BCRP transportérem
- stanovit vliv kyseliny valproové na nukleární receptory CAR a PXR a pokusit se ozřejmit vliv tohoto účinku na expresi CYP3A4 a MDR1.

Experimentální metody, které jsou uvedeny v jednotlivých publikacích, zahrnují řadu farmakologických a molekulárně-biologických postupů. Předkladatel prováděl transportní a akumulární studie s vybranými buněčnými liniemi, genové reportérové studie, real-time PCR analýzu a testy enzymatické aktivity cytochromu P-450. Úspěšné zvládnutí a rutinní použití uvedených metod svědčí o schopnosti uchazeče pracovat v experimentální laboratoři velmi precizně a odpovědně.

Výsledky, které jsou v souboru předložených publikací prezentovány, ukazují na minimální vliv efluxního BCRP transportéru na transport studovaných antiepileptik a na možné ovlivnění transportních a biotransformačních procesů antiepileptiky prostřednictvím působení na nukleární transkripční receptory.

Výsledky lze shrnout do následujících bodů:

- transportní studie na monovrstvách MDCKII buněk neodhalily mezi početnou řadou testovaných antiepileptik žádný substrát BCRP transportéru
- akumulární studie prokázaly s pomocí buněk transfekovaných lidským BCRP neprokázaly významný modulační vliv na transport prostřednictvím BCRP
- byl prokázán aktivační vliv valproátu na nukleární receptory CAR a PXR a možné ovlivnění exprese CYP3A4 a MDR1

Připomínky a dotazy oponenta:

Všechny publikace, které autor v dizertační práci prezentuje, prošly recenzním řízením ve kvalitních odborných časopisech. Zásadní připomínky, které by zpochybňovaly cíle, metody a výsledky práce oponent nemá. Až na ojedinělé jazykové prohřešky, které nijak neovlivňují srozumitelnost textu, je rigorózní práce po formální stránce na velmi dobré úrovni. Následující připomínky a dotazy oponenta jsou proto zaměřeny téměř výhradně jen na upřesnění některých údajů uvedených v úvodu a v souboru publikací a na širší dopady výsledků jeho práce:

1. Proč byla jako část 4 do rigorózní práce zařazena publikace, která se tematicky vymyká z tématu práce, neboť se týká studia regulace transportních a metabolických procesů v placentě prostřednictvím glukokortikoidního receptoru alfa? Tato část není zohledněna v úvodní části práce a její výsledky nejsou prezentovány ani v závěrečném souhrnu. Její zařazení se tak jeví jako redundantní.

2. Lze pokládat za dostatečné provádění pouze tří individuálních experimentů při studiu up-regulace CYP3A4 a MDR1, jak je uvedeno v části 3 v obr. 5? Podobný počet experimentů je je uveden i pro studium enzymové aktivity CYP3A4 (obr.6) a pro některá další měření.

3. Ovlivňují i další antiepileptika vámi studované nukleární receptory podobně jako kyselina valproová?

4. Existují poznatky o indukovatelnosti transportéru BCRP - ať už farmaky či patologickými procesy?

Závěr:

Práce splňuje po formální stránce předepsané požadavky a obsahuje jak formulaci studované problematiky, přehled současného stavu poznání v dané oblasti, popis zvolených metod řešení, výsledky, kterých bylo dosaženo, seznam použité literatury, přehled publikovaných prací a k práci je připojen i souhrn v anglickém a českém jazyce.

Podíl autora na vypracování jednotlivých publikací a na experimentální práci, jejíž výsledky jsou v dizertační práci prezentovány, je v práci přesně uveden. Předkladatel je pisatelem dvou publikací, ve kterých je uveden jako první autor. Autorův podíl na experimentální práci je široký a významný pro získání deklarovaných poznatků. Předkladatel dizertační práce zvládl širokou paletu pokročilých metodických přístupů, z nichž mnohé vyžadují vysokou erudici.

Výsledky, na kterých se předkladatel významně podílel, přinášejí originální poznatky o funkci a významu efluxních transportérů pro transport antiepileptik. Autor se podílel na prohloubení poznatků o funkci membránového transportéru BCRP. Tento transportér byl objeven poměrně nedávno a o jeho funkci v organismu jsou zatím poznatky pouze limitované. Velmi přínosné jsou získané údaje o vzájemných souvislostech při regulaci transportu a metabolismu léčiv a o vlivu významného antiepileptika – kyseliny valproové na regulační nukleární receptory CAR a PXR. Poznatek o stimulačním vlivu valproátu na transportér MDR1 má význam i pro využití valproátu v onkologii, neboť tento účinek by mohl podpořit vývoj rezistence na léčbu některými cytostatiky.

Předkladatel prokázal schopnost cílevědomé vědecké práce, včetně prezentace získaných výsledků. Je hlavním autorem či spoluautorem pěti původních prací, několika abstraktů ze zahraničních a domácích konferencí, na kterých prezentoval výsledky své práce ve formě přednášek a posterů.

Na základě výše uvedených skutečností proto konstatuji, že práce mgr. Lukáše Červeného „Interakce vybraných antiepileptik s efluxními lékovými ABC transportéry a nukleárními receptory“ zcela splňuje požadavky kladené na doktorskou dizertační práci a dokumentuje schopnost autora vědecky pracovat na odpovídající úrovni. Odborná kvalita předložené práce je velmi vysoká. Doporučuji proto uvedenou dizertační práci k obhajobě, na jejímž základě by byl udělen uchazeči příslušný vědecký titul.

V Hradci Králové dne 23.11. 2007


Doc. PharmDr. F. Trejtnar, CSc.