

**UNIVERZITA KARLOVA
FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ**

Katedra farmakologie a toxikologie

Studijní program: Farmacie

Posudek oponenta diplomové práce

Rok obhajoby: 2022

Autor/ka práce: **Adéla Králová**

Vedoucí práce: Doc. PharmDr. Martina Čečková, PhD.

Konzultant/ka: Mgr. Simona Suchá

Oponent/ka: PharmDr. Eduard Jirkovský, PhD.

Název práce: **Hodnocení vlivu nových FLT3 inhibitorů na akumulaci daunorubicinu u ABCB1-exprimujících leukemických buněk**

Rozsah práce: 40 stran, 10 obrázků, 1 tabulek, 44 citací

Hodnocení práce:

- | | |
|--|-------------|
| a) Odborná úroveň a zpracování teoretické části: | výborná |
| b) Náročnost použitých metod: | výborná |
| c) Zpracování metodické části (přehlednost, srozumitelnost): | velmi dobré |
| d) Kvalita získaných experimentálních dat: | výborná |
| e) Zpracování výsledků (přehlednost, srozumitelnost): | velmi dobré |
| f) Hodnocení výsledků včetně statistické analýzy: | velmi dobré |
| g) Myšlenková úroveň a rozsah diskuse výsledků: | výborná |
| h) Srozumitelnost, výstižnost a adekvátnost závěrů: | výborná |
| i) Splnění cílů práce: | výborné |
| j) Množství a aktuálnost literárních odkazů: | výborné |
| k) Jazyková úroveň (stylistická a gramatická úroveň): | velmi dobrá |
| l) Formální úroveň práce (členění textu, grafické zpracování): | výborná |

Doporučuji diplomovou práci k uznání jako práci rigorózní

Případné poznámky k hodnocení:

Předložená práce popisuje studium exprese ABCB1 transportéru v leukemických buněčných liniích na genové úrovni, u části buněčných linií i na proteinové úrovni, a jeho následné funkční inhibici novými FLT3 inhibitory. Cíle práce byly splněny, dosažené výsledky jsou zajímavé a budou jistě využity v budoucích experimentech; část práce byla koncipována i jako optimalizace metody.

Teoretická část je zpracovaná velmi pěkně, je stručná a přehledná. Ačkoli práce obsahuje minimum překlepů, stylistická úroveň by zasluhovala rozhodně vylepšit, protože zvolené formulace neodpovídají úrovni práce ani zažitým standardům (hlavně jde o metodickou a částečně i výsledkovou část). V metodice nejde jen o nepřesné/nesmyslné formulace, ale chybí i některé podstatné detaily pro případné zopakování experimentů (jak byly buňky pasážovány, má pasáž vliv na fenotyp, v metodice PCR chybí uvedení fluorescenční sondy, výrobce či sekvence primerů, pro akumulační studie detaily průtokové cytometrie, filtry, koncentrace daunorubicinu atd.). Výsledky jsou dobře diskutované, jen na straně 35 jsou u akumulačních studií zmíněny i linie MOLM-13 a THP-1, ačkoli ve výsledcích a metodice

nebyly uvedeny. V diskuzi by mohla být více diskutována otázka exprese ABCB1 v Kasumi-1 buňkách na základě dostupných literárních zdrojů.

Vzhledem k výše uvedenému je moje hodnocení práce na pomezí 1-2, experimentální část metodiky a zpracování výsledků hodnotím jako výborné, srozumitelnost a stylistická část je horší.

Dotazy a připomínky:

1. V rámci rozvoje rezistence u AML, je popsána i zvýšená exprese i jiných exfluxních transportérů spojených s rozvojem rezistence?
2. Jak se v klinické praxi optimalizuje chemoterapie u AML pacientů se zjištěnou zvýšenou expresí ABCB1?
3. Jaké byly ct hodnoty GAPDH a ABCB1 u jednotlivých buněčných linií?
4. Jaký má vámi použitý postup normalizace PCR výsledků (tedy odečtení ct hodnot) výhodu oproti poměru delta-ct hodnot referenčního a cílového genu (adaptaci Pfafflovy metody bez odečtu ct kontrolních vzorků)? Počítaly jste efektivitu primeru?
5. Uvádíte, že GAPDH byl nejstabilnější referenční gen. Jakým způsobem byla stabilita exprese hodnocena?
6. Proč byla pro denuraci vzorků před SDS-PAGE použita teplota práce 37 °C, nezkoušely jste i jiné? Z obr. 9 je patrné, že nedošlo k optimálnímu vstupu proteinů do gelu a jejich následné migraci.
7. Čím se liší jednotlivé buněčné linie mezi sebou (kromě zjevné exprese ABCB1)?
8. V diskuzi píšete, že Kasumi-1 sice exprimují ABCB1, ale zjevně ne na proteinové úrovni. Jsou možná i jiná vysvětlení pro nulovou akumulaci daunorubicinu v Kasumi-1 buňkách?

hodnocení, práce je: výborná

k obhajobě: doporučuji

V Hradci Králové

18. května 2022

podpis oponenta/ky