

OPONENTSKÝ POSUDEK

disertační práce Mgr. Jany Kralovičové „Aplikovaná farmakokinetika v preklinickém výzkumu“.

Předkládaná dizertační práce „Aplikovaná farmakokinetika v preklinickém výzkumu“ Mgr. Jany Kralovičové je výsledkem jejího postgraduálního studia v Doktorském studijním programu Farmakologie a toxikologie a studijního oboru Farmakologie a toxikologie. Školitelem byl doc. PharmDr. Martin Šíma, Ph.D. Dizertační práce byla vypracována na Farmakologickém ústavu 1.LF UK.

Disertace má 50 stran a následuje Seznam literatury (10 stran), Seznam příloh (1 strana), dohromady 61 číslovaných stran a dále 5 příloh resp. publikací. Práce je psána v českém jazyce. Vlastní dizertace začíná abstraktem v českém jazyce a anglické verzi. V abstraktu jsou shrnuty hlavní výsledky práce, které se týkají optimalizací modelů pro studium farmakokinetických parametrů na laboratorních zvířatech s cílem využít pre-klinické modelování v humánní farmakologii a toxikologii. Dále disertační práce pokračuje Obsahem s klasickým, ale nepřiliš strukturovaným členěním kapitol, Seznamem zkratk, Seznamem vlastních publikací (sedm prací, z toho čtyři s impakt faktorem) a další odborné činnosti související s předkládanou problematikou a Poděkováním. Úvodní teoretická část má 13 stran, poté jsou uvedeny Hypotézy a cíle práce. Kapitulu Metody tvoří 2 stránky. Výsledky jsou prezentovány na 15 stranách. Diskuse a Závěry tvoří 7 stran.

Na úvod je třeba ocenit, že studentka se zabývá nepřiliš studovanou, ale důležitou problematikou hodnocení farmakokinetických parametrů u zvířat a možným využitím získaných výsledků pro humánní, ale i veterinární medicínu. Náročnost *in vivo* studií je oponentovi známá a oceňuje ji. Rovněž chirurgické metody, se kterými se studentka seznámila a používala je, vyžadují značný um. V práci jsou hezky formulovány tři hypotézy a jednotlivé čtyři cíle jsou přehledně uvedeny.

Disertační práce se zabývá studiem vybraných farmakokinetických procesů (zejména absorpce, distribuce) a parametrů na zvířecích modelech. Hodnotí paralelní a cross-over uspořádání pokusných zvířat v experimentech zaměřených na studium farmakokinetiky. Z prací vyplývá, že cross-over uspořádání s menším počtem zvířat je vhodné pro krátkodobé farmakokinetické studie. Dále se práce zabývá vlivem pH a potravy na absorpci vybraných léčiv a optimalizací jejich účinku vhodnou lékovou formou. Součástí disertace je i studium post-mortem redistribuce léčiva alprazolamu u potkanů.

Práce je psána formou komentáře k daným publikacím (alespoň tak to oponentka pochopila).

Sepsaný komentář k publikacím je poměrně stručný. Celková stručnost práce by nevadila, kdyby z komentáře jasně vyplývalo proč něco děláme a s čím. Zejména se to týká kapitol Metody a Výsledky. Čtenář se dozví jen velmi málo a obecně ve smyslu „tohle vyšlo jinak než kontrola“. To je v kontrastu s kvalitními přiloženými publikacemi. Disertační práce je z mého pohledu odbytá a potřebovala by vylepšit, zpřesnit, graficky zdokonalit. Studentka mnohdy odbyde vlastní výklad a vysvětlení slovy: najdete to v publikacích, typicky v Metody

a Výsledky. Sepsaný komentář musí mít ale nějakou logickou strukturu a návaznost. Z mého pohledu se nepodařilo vystihnout podstatné věci do literárního úvodu a spojit je cíleně s metodami a výsledky a shrnout vše přehledně do závěrů podle (hezky) připravených hypotéz a cílů. Disertační práce tak působí amorfním a nezajímavým dojmem.

Moje připomínky se týkají všech kapitol tj. Literární úvod, Metody, Výsledky, Diskuse, Závěr.

Literární přehled

Bylo by třeba tuto kapitolu cíleněji přizpůsobit předkládaným publikacím a připravit čtenáře na řešenou problematiku. Chybí mi zmínka o lékových formách, inovativních lékových formulacích (těch ve vztahu k publikacím, např. Příloha 2). Ve třech příložených publikacích pracuje studentka s abirateronem, ale letmo se o něm dozvídáme v průběhu práce na různých místech, ale nejvíce v publikaci; rovněž o dalších studovaných léčivech a jejich významu, FK parametrech u lidí či zvířat není adekvátně pojednáno. Farmaka by zasluhovala svou subkapitolu, aby jakýkoliv čtenář pochopil, proč zrovna s nimi se pracovalo. Dále zde není nic o lymfatické absorpci (kde by mohl být např. obrázek) a věnují se jí přitom autorčiny 2 studie. Rovněž by bylo vhodné připomenout, co je to bioekvivalenční studie, a seznámit stručně s biofarmaceutickým klasifikačním systémem (např. formou tabulky). Literárnímu přehledu by slušel nějaký obrázek, schema.

Metody:

Tato kapitola je velmi krátká (2 strany) a jednotlivé odstavce působí jako vytržené ze souvislostí. O některých detailech se autorka rozepisuje poměrně podrobně (dasatinib), něco úplně vypustila. V této kapitole by mohl být např. schematický obrázek designu paralelní a cross-over aplikace látek.

Dále poznámka ke zkoumaným formulacím: autorka by měla v nějaké kapitole alespoň krátce vysvětlit, v čem spočívá jejich inovativnost a tedy záměr je studovat. Pokud tomu tak nemůže být, např. z důvodu know-how farmaceutické firmy, tak jasně do disertační práce napsat, že to nelze uvést. Viz dále výsledky*.

Statistické metody, které se v daných v daných publikacích používají v závislosti na typu studie, by zasluhovaly samostatný odstavec.

Výsledky

Výsledky by bylo skutečně žádoucí nějakým způsobem přehledně rozčlenit do subkapitol.

Tab. 7 a 8 (str. 36): Nadpis sloupce „samostatně a cykloheximid“: jednou je tam obecně nadpis „samostatně“, jednou je konkrétně uvedena látka cykloheximid. Volila bych např. přímo název cinacalcet - místo „samostatně“, a +cykloheximid, aby bylo vidět tu kombinaci.

Rozměr pro AUC se běžně uvádí jako (hmotnost / objem) × čas. Ve vašich grafech (Obr. 1 aj.) se uvádí ještě přepočten na gramy. Analogicky pro stanovení plasmatických koncentrací, např. Obr. 3 a tabulky s c_{max} . vysvětlete tuto skutečnost a doplňte do textu.

Str. 29 a publikace Pharmaceutics 2022: co jsou to skupiny A – F, je nějaký důvod proč je v B, D a E, F skupinách méně zvířat než v A, B? Má to nějakou příčinnou souvislost s formulacemi T1-T3? Bylo by vhodné udělat grafické schema designu pokusu (v Metodách).

Str. 30:

*Několikrát se opakuje v rámci jednotlivých příloh (1-4) výsledek ve smyslu: „**test** se liší od **reference**“; „u reference se projevil“ (např. str. 31, 39). Jde o laboratorní hantýrku těchto dvou substantiv. Současně je dost komplikované se z komentovaného přehledu dopátrat, co je to test (asi např. inovativní formulace, str. 31) a čím se liší od reference. Stačilo by dodat, že např. „námi/kolegy připravený vzorek s vyšší/rychlejší rozpustností s obsahem látky X se lišil od kontroly, tj. běžně užívané formulace s léčivem X.

Příloha 2: Disertační práci by prospělo, kdyby se někde objevily *in vitro* výsledky z této studie (ale dříve než diskusi).

Str. 32: v Obr. 3 na první pohled upoutá velká směrodatná odchylka. V předložené práci to není komentováno.

Popis výsledků Přílohy 2 je rozdělen na pokus 1 a pokus 2 (str. 30 - 35 v textu). Sled obrázků a tabulek a textu je zmatený. Minimálně by mělo být v úvodním komentáři souhrnně uvedeno, že k popisu první části se vztahují ty a ty grafy, a k části 2 tamty grafy. Obr. 3 na str. 32 se vztahuje k první studii, ale celkem bez větší mezery na téže straně začíná popis druhé studie. U Obr. 5 na str. 35 už pro změnu začíná text Přílohy 3 (ale je tam alespoň dvojitá mezera).

Str. 32: „studie je zaměřena na absorpci“. Ve výsledcích k tomu na str. 34 jsou c_{max} a AUC. To se nevylučuje. Ale název publikace v Příloze 2 je trochu jiný. Pokud autorka chce jasně vymezit účast na experimentech, mělo by to být předem někde zaznamenáno a o to více uvedeno do souvislostí.

Tab. 9 a 10 (str. 38 a 40), co to znamená sekvence 1,2,3. Skutečně šlo o časovou posloupnost? V Obr. 8. je navíc zmiňována 1. a 2. perioda. Jde o totéž? Opět by bylo vhodné znázornit graficky design pokusů.

Další příklady nepřesnosti a přílišného zobecnění:

Str. 41 (Přílohy 5): ...“u všech skupin se objevila“.... Ptám se jakých skupin, souvisí to s časovým odběrem?

Str. 46 (Diskuse) uprostřed: ... „pilotní studie s abirateronem, jež na našem ústavu proběhla (Boleslavská 2020, GURAV 2012, RAMISETTI 2014)“...Dva poslední jsou z Indie.

Str. 46 - celý předposlední odstavec: 1. Kdo dělal to předchozí *in vitro* hodnocení? 2. Inovovaná formulace – co tam bylo inovováno? 3. „použitelnost modelu“ - jakého, v čem, pro co ?

Další věta na str. 46:… „, podle literárních údajů o biologickém poločasu“ …Uvedte ten poločas (je stejný jako u lidí)? A zdroj literatury k tomu.

Závěr práce by rovněž zasloužil větší strukturovanost.

Formální chyby:

- grafy nejednotné ČJ vs. AJ (obr. 4 a 5 nebo 3 a 4) !

- směrodatná odchylka – někde chybí znak \pm

- je správně citace č. 5 v publikaci Příloha 2: Chien C et al., 2017? Nedá se to dohledat (na Pubmed).

- Publikace, resp. příloha 3 je dodána neúplná – chybí Supporting information (kde jsou grafy k farmakokinetice).

Závěr: práci tvoří hodnotné publikace se zajímavými výsledky. Vlastní sepsaný komentář je ale v kontrastu s tím. Sepsaná práce má řadu nejasností, nepřesností, je málo členěná a nepřehledná. Cíle práce jsou formulované. Počet publikací je bez problémů splněn, včetně prvoautorské publikace. Z předložené práce ale nevyplývá vědecká úroveň adeptky se schopností precizního uvažování a formulování vědeckých poznatků. Text není edukativní pro potencionální čtenáře. Z mého pohledu je třeba zachovat standard obhajovaných disertačních prací v oboru farmakologie a toxikologie na UK. **Požaduji přepracovat disertační práci,** aby mohl být studentce Mgr. Janě Královičové udělen vědecký titul doktor (Ph.D.) podle § 47 Zákona o vysokých školách č. 111/98 Sb.

V Praze, 29 září 2022

Doc. RNDr. Eva Kmoníčková, CSc.