

**UNIVERZITA KARLOVA  
FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ**

Katedra farmakologie a toxikologie

Studijní program: Farmacie

**Posudek oponenta diplomové práce**

Rok obhajoby: 2023

Autor/ka práce: **Barbora Žofajová**

Vedoucí práce: doc. RNDr. Jakub Hofman, Ph.D.

Konzultant/ka: Ziba Sabet, M.Sc.

Oponent/ka: doc. PharmDr. Lukáš Červený, Ph.D.

Název práce: **Expresia ABC transportérov v bunkových kulturách nemalobunkového plicného karcinómu: efekt vybraných cílených liečiv**

Rozsah práce: 62 stran, 17 obrázků, 1 tabulek, > 80 citací

**Hodnocení práce:**

- |  |                    |
|--|--------------------|
| a) Odborná úroveň a zpracování teoretické části:               | velmi dobrá        |
| b) Náročnosť použitých metod:                                  | výborná            |
| c) Zpracování metodické části (přehlednost, srozumitelnost):   | velmi dobré        |
| d) Kvalita získaných experimentálních dat:                     | výborná            |
| e) Zpracování výsledků (přehlednost, srozumitelnost):          | výborné            |
| f) Hodnocení výsledků včetně statistické analýzy:              | vyberte zhodnocení |
| g) Myšlenková úroveň a rozsah diskuse výsledků:                | velmi dobrá        |
| h) Srozumitelnost, výstižnost a adekvátnost závěrů:            | velmi dobrá        |
| 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): | velmi dobrá        |

Doporučuji diplomovou práci k uznání jako práci rigorózní

Případné poznámky k hodnocení:

Dle názoru oponenta by diplomová práce mohla být lépe strukturovaná a občas se objevují nepřesnosti. Informace důležité pro pochopení práce byly ve většině případů v práci uvedeny, ale často na jiném místě než jsem je hledal (např. hypotéza byla spíše uvedena ve výsledkové části, některé informace důležité pro její pochopení až v diskusi, např. molekulární mechanismy indukce apod.). V kapitole o ABC transportérech je nutné jít od obecných informací ke konkrétním ve smyslu jedná se o aktivní efluxní a influxní transportéry, je jich 48 a jsou rozděleny do sedmi rodin, a pak přejít na efluxní ABC transportéry ovlivňující FK a MDR. Někdy je úvod zatížen nepodstatnými detaily, např. část o cílené distribuci. Na druhou stranu pak nějaké informace chybí; např. je uvedena pouze jedna věta, že existují nějaká doporučení pro testování interakcí léčiv s transportéry a biotransformačními enzymy. Dále protože jsme vědecké pracoviště (nikoliv farmaceutická firma), předpokládal bych, že hypotéza práce bude více podložena, např. v literatuře je nejednotnost ohledně indukčního potenciálu testovaných látek, je tam strukturní podobnost s popsányi induktory a/nebo jsou popsány lékové interakce, ale molekulární mechanismus není znám apod. Pro lepší pochopení získaných výsledků a jejich přenositelnost (např. na

situaci u člověka) mi chybí krátká kapitola o zvolených experimentálních postupech s uvedením jejich výhod a nevýhod a mohly by být stručně uvedeny i jiné doporučené metody testování. Dle citovaných doporučení nebyla provedena statistická analýza indukce a důvod je v práci vysvětlený. Byl využit FDA a EMA doporučený postup, nicméně stejně by bylo velmi zajímavé vidět výsledky i s SD kontroly a statistickou analýzou. Ačkoliv se DP věnuje methotrexátu a pemetrexedu, v úvodu je o nich uvedeno pouze "Detailný popis týchto dvoch chemoterapeutík prezentovaný nebude, pretože sú farmakológom veľmi dobre známe". Metodická část je psána velmi detailně, ale na důležitých místech často bez odkazů na předchozí práce (např. provedení proliferačních studií, indukci apod.). Závěrem je ale nutné říci, že z práce číší velká snaha udělat ji co nejlépe a celkově ji hodnotím jako velmi zdařilou.

Dotazy a připomínky:

Prosím o stručné odpovědi!

1. Mohla byste uvést ve zkratce výhody a limity použitých buněčných modelů? Je např. exprese nukleárních faktorů v použitých systémech dostatečná? Jaká je přenositelnost výsledků in vitro do in vivo situace?
2. Zohledňují doporučení FDA a EMA pro realizaci indukci i čas inkubace? Existují specifická doporučení pro sledování indukce ABC transportérů? Uvádí tato doporučení, kolikrát by se měla exprese v případě pozitivní kontroly zvýšit, aby byla potvrzena funkčnost modelu?
3. Jaké byly naměřené ct hodnoty ABCG2 a ABCC1 v kontrolách testovaných buněk?
4. Je RIF vhodně zvolenou pozitivní kontrolou? Zejména pak pro ABCG2 a ABCC1? Neexistují jiné vhodnější pozitivní kontroly pro indukce těchto genů? V této souvislosti, pokud RIF indukuje "nepřesvědčivě", lze pak vyvozovat nějaké definitivní závěry?
5. V diskusi se zabýváte indukci skrze aktivaci NR, existují i jiné molekulární mechanismy indukce?
6. Prosím specifikujte, kolik technických replikátů a kolik biologických bylo pro analýzu indukce použito.
7. Bylo by možné jmenovat nějaká léčiva, která jsou lékem volby nemalobuněčného karcinomu plic a jsou substrátem ABCB1, ABCG2 nebo ABCC1?
8. MTX a PEM jsou analoga kyseliny listové. Je o kyselině listové známo, že by ovlivňovala expresi ABC transportérů a biotransformačních enzymů? Je v literatuře popsáno, že MTX nebo PEM zkracují plazmatický poločas současně podaných léčiv zrychlením eliminace?
10. Pro indukční studie jste nasazovali poměrně velké množství buněk, předpokládám, že po 48 a 72 hodinách byly jamky zcela plné, nemohlo to ovlivnit výsledky studie?

**hodnocení, práce je: výborná**

**k obhajobě: doporučuji**

V HK

26. května 2023

podpis oponenta/ky