

**UNIVERZITA KARLOVA
FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ**

Katedra biochemických věd

Studijní program: Bioanalytická LDZ

Posudek oponenta diplomové práce

Rok obhajoby: 2023

Autor/ka práce: **Bc. Natálie Klusová**

Vedoucí práce: prof. PharmDr. Martin Beránek, Ph.D.

Konzultant/ka: RNDr. Milada Šírová, Ph.D.

Oponent/ka: RNDr. Miloslav Macháček, Ph.D.

Název práce: **Protinádorový a imunomodulační efekt polymerních konjugátů na bázi HPMA nesoucích gemcitabin**

Rozsah práce: 94 stran, 23 obrázků, 8 tabulek, 91 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): | výborné |
| f) Hodnocení výsledků včetně statistické analýzy: | výborné |
| g) Myšlenková úroveň a rozsah diskuse výsledků: | výborná |
| 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): | výborná |
| l) Formální úroveň práce (členění textu, grafické zpracování): | výborná |

Doporučuji diplomovou práci k uznání jako práci rigorózní

Případné poznámky k hodnocení:

Diplomová práce Bc. Klusové předkládá poměrně rozsáhlou studii polymerních konjugátů léčiva gemcitabinu. Text práce má jen minimum překlepů (např. "požitou spojkou"), které nemají významný dopad na kvalitu práce, která je velmi snadno čtivá, a zároveň obsahuje veškeré potřebné odborné informace. Oceňuji korektní a úplné uvedení veškerých informací (povolení, projekt pokusů) u experimentální práce se zvířaty - na to se u diplomových prací zapomíná. Studentka si osvojila mnoho odlišných a náročných experimentálních postupů - práce s buňkami, stanovení IC50 pomocí inkorporace radioaktivního 3H-thymidinu, práce s in vivo nádorovými modely, průtoková cytometrie apod., a získala velké množství kvalitních dat.

Dotazy a připomínky:

Připomínky:

A) Vícenásobné citace u jednoho odstavce by měly být v jedné závorce, ne každá zvlášť jako tomu je např. na str. 11 "(Baba a Cătoi, 2007); (Brychtová et al., 2018); (Cooper, 2000)."

B) Zajímavé je použití zkratky FTS pro fetální bovinní sérum - běžná je zkratka FBS.

C) Někde jsou uváděny v postupech přípravy materiálu množství složek (navážky, objemy), jindy zase poměry. Pro přehlednost by bylo lepší mít toto sjednoceno.

D) Uvedení otáček u centrifugace není moc relevantní, pokud při uvedení typu centrifugy není specifikován i rotor. Lepší je použít násobky g (relativní centrifugační sílu).

E) V některých případech by bylo vhodné uvést zdroj dané informace - např.: "Jako ukazatel systémové toxicity byla sledována váha myši a na základě literárních údajů a zkušeností laboratoře byla hranice maximálního úbytku váhy stanovena na 85 % původní váhy myši." na str. 47. V této kapitole metodiky navíc u stanovení MTD chybí údaj, jak dlouho byla váha myši sledována.

F) Závěry by měly být odpověďmi/reakcemi na cíle práce, V závěrech však není shrnutý každý (pod)bod cílů práce, ač veškeré výsledky získány byly (což je vcelku jasně uvedeno v kapitole výsledků či v diskuzi).

Dotazy:

1) U nepřímo působících karcinogenů (prokarcinogenů) uvádíte jako jeden z příkladů mykotoxiny - existují i přímo karcinogenně působící mykotoxiny (ultimální karcinogeny)?

2) Jak staré byly myši v době inokulace? Jaká byla jejich váha?

3) Dle čeho byl určen přesný den aplikace látek jednotlivým skupinám myších modelů nádorů?

4) Proč byl jako parametr velikosti nádoru zvolena plocha (navíc jde o plochu obdélníku), a ne objem nádoru?

5) Na základě jakého "parametru" byly jednotlivé in vivo experimenty léčby nádorů ukončeny? (Grafy u BALB/c myši inokulovaných 4T1 buňkami ukazují měření velikosti nádorů cca do 30.-50. dne, vážení myši do 30. dne a přežití myši až do cca 150. dne. U dalších modelů se délky experimentů také liší.)

6) MTD gemcitabinu je dle literatury 700 mg/kg, zatímco vašich konjugátů pouze cca 30-100 mg/kg. Jsou známé tyto hodnoty také pro samotné polymery neobsahující gemcitabin? Ve výsledcích je zmíněno, že MTD byly stanoveny jak pro i.v. tak po i.p. podání - v tabulce 4 je však jen jedna sada hodnot bez dalšího upřesnění cesty podání. Na téže stránce je totiž uvedeno: "Jako méně toxické a terapeuticky účinnější se ukázalo být podání intravenózní."

7) Jak si vysvětlíte kontinuální pokles váhy kontrolních myši BALB/c nesoucích 4T1 nádor oproti myším s aplikovanými studovanými látkami (obr. 13)? Nádor roste (objem, tedy i váha) - po 30 dnech má velikost přes 400 mm² u kontrolních myši.

Obdobně u obr. 18 u myši B/6 (LL2) dochází sice u kontrolních myši k významnému kontinuálnímu nárůstu hmotnosti, v cca 27. dni však váha začne prudce klesat. A také u myši Rag2^{-/-} (MiaPaca2) obr. 20 dochází u kontrolních myši po 70. dni také k poklesu váhy.

8) Na obr. 18 je vidět nejlepší efekt na snížení velikosti nádoru u konjugátu P-Gem3, jak to, že přežívání má významně lepší P-Gem4?

hodnocení, práce je: výborná

k obhajobě: doporučuji

V Hradci Králové

26. května 2023

podpis oponenta/ky