Děkanát
Univerzita Karlova v Praze
Farmaceutická fakulta v Hradci Králové
Heyrovského 1203/8
Hradec Králové

# OPONENTSKÝ POSUDEK DISERTAČNÍ PRÁCE

## Impact of P-glycoprotein on drug absorbtion form the airways

Disertantka: **Mgr. Michaela Mádlová**

Školitel specialista: **Dr. Robert Forbes, Ph.D**
King´s College London, University of London

Školitel: Doc. RNDr. Pavel Doležal, CSc., UK-FaF v Hradci Králové

Zpracoval: Doc. Ing Jan Severa, CSc.
Decomkov Praha s.r.o.
Laboratoře Hradec Králové
Nezvalova 958
500 02 Hradec Králové

**2008**

## Úvod

Předložená disertační práce je napsána na 123 stranách, z toho 19 stran literatury. Do textu je zařazeno celkem 33 obrázků a 7 tabulek. Práce má všechny náležitosti stanovené pro disertační práci, jako: abstrakt, prohlášení o autorství, obsah, seznamy obrázků, tabulek, v textu vložených rovnic a také seznam použitých zkratek.

Postrádám přehled disertantkou publikovaných vědeckých prací, ústních sdělení či posterů na odborných shromážděních, případně i informace o tom, zda je disertantka autorem patentů. Teprve dodatečně, v tezích jsem zjistil, že disertantka je pouze jednou hlavním autorem, přijaté, dosud nezveřejněné publikace a jednou jako spoluautor v publikované práci, což považuji za nedostatečné.

Disertační práce, a to nejenom uspořádáním, přehledností, ale zejména stručností, věcností a srozumitelností je napsána na velmi dobré úrovni.

## Aktuálnost zvolené problematiky

Přestože o úloze P-glykoproteinu (P-gp), jakožto membránovému transportnímu proteinu bylo do této doby věnováno mnoho prací, zůstala řada neobjasněných a také mnohdy rozporně vyložených jevů a poznatků. S postupem času byly zaváděny nové metody, které umožnily zpřesnění poznatků, např. o aktivitě a lokalizaci P-gp v buňkách. Také pokroky související s využitím nové techniky a metod např. využití radionuklidy značených sloučenin při studiu transportních mechanismů, dále využití zobrazovací a transmisní elektronové mikroskopie při důkazu přítomnosti a distribuci látek, umožňují pokračující další hlubší studium role P-gp.

Domnívám se, že systematické studium vlivu P-gp na absorpci léčiv v bronchiálních buňkách Calu-3, v primárních kulturách lidských bronchiálních buněk a v izolovaných plících potkanů je vysoce aktuální a užitečné téma, jehož výsledky lze využít v terapeutické praxi.

Má-li být dosaženo, aby cílové orgány či tkáně přijaly maximum z podané dávky léčiva, a to v nezměněném složení – vlastnostech, je nezbytně nutné znát transportní mechanismy lékové formy a všechny faktory mající vliv na efektivitu terapie. A právě k řešení tohoto problému předložená disertační práce přispěla.

## Cíl disertační práce

Cíl je formulován ve druhé části disertační práce:"Na základě systematického studia objasnit úlohu P-gp jakožto membránového transportního proteinu při pulmonární absorpci léčiv in vitro s využitím některých buněčných modelů.

K tomu, aby tento cíl byl dosažen, byly stanoveny postupné kroky řešení úkolu, které zahrnují jak vstupní studii – optimalizaci podmínek normální buněčné kultury bronchiálního epitelu, tak studie srovnávací a dále ty, ve kterých byly studovány vlivy různých faktorů ovlivňujících transportní mechanismus P-gp.

Je třeba dodat, že disertantka si stanovila velmi náročný cíl. Ten formulovala teprve po obsáhlé a důkladné studii literárních údajů, která spolu s předpoklady vyspělosti a technické vybavenosti pracovišti, na němž disertační práce vznikla ( King´s College London, University London) vytvořila předpoklady pro úspěšné řešení úkolu a dosažení stanovených cílů práce.

Je pochopitelné a současně správné, že disertantka využila možnosti takovéhoto pracoviště a ochoty spolupráce graduovaných specialistů při některých studiích (jako např. při radiometrických měřeních u nichž byly použity sloučeniny označené radionuklidy $C^{14}$ či $H^{3}$,

nebo při morfologickém vyšetřování buněčných kultur s využitím zobrazovací a transmisní elektronové mikroskopie.

**Zvolené metody práce**

Z údajů uvedených v disertační práci je zřejmé, že volba metod, které byly při dílčích studiích použity, byla správná. O tom svědčí jak výsledky, tak závěry k jednotlivým experimentálním studiím, a také výsledky jako celku.

I když řada metod není podrobně popsána, lze předpokládat, že byly použity ty, které na pracovišti, na němž práce vznikla jsou běžně zavedeny, případně akreditovány.

Na kolik jsou některé metody původním autorstvím disertantky, není z textu disertační práce zřejmé.

Velmi pozitivně hodnotím komplexnost řešení s využitím velké škály pracovních postupů.

**Výsledky práce**

Výsledky práce jsou prezentovány v části 5 (diskuse výsledků) a kompaktně pak v závěrech disertační práce.

Mezi nejvýznamnější výsledky patří zjištění existence aktivního transportního mechanismu P-gp při perfusi isolovanými plícemi potkana., dále potvrzení přítomnosti P-gp jak v alveolární, tak v bronchiální tkáni. Dále pak za závažný a přínosný považuji poznatek o úloze digoxinu při studiu transportních mechanismů a absorpci léčiv v plicní tkáni.

Dosažené výsledky dokumentují nejen naplnění stanoveného cíle, ale také schopnost disertantky samostatné tvůrčí vědecké práce, schopnost výsledky správně zhodnotit, interpretovat a vyslovit smysluplné v praxi využitelné závěry. Tím naplnila jeden z hlavních předpokladů pro obhajobu práce.

**Přednosti disertační práce**

Práce je uceleným a přehledným souborem jak literárních poznatků, tak samotného řešení problému. Je dokumentována velkým počtem literárních citací, což svědčí o náročné a dlouhodobé přípravě disertantky před zahájením experimentálních prací.

Disertační práce je také souborem metod využitých při řešení úkolu, které mohou být použity při dalších studiích podobného zaměření.

To nejdůležitější je vědecký přínos práce, tj. další poznatky o úloze P-gp jako transportního membránového proteinu.

Disertační práci hodnotím jako vysoce kvalitní, po odborné stránce prakticky bezchybnou.

**Nedostatky disertační práce**

**Formální:**

- Nepříliš vydařené reprodukce některých obrázků z hlediska jejich čitelnosti (např. obr. 1),
- Jednotky veličin se uvádějí v šikmých, nikoli v kulatých závorkách,
- Na obr. 1 je nesprávně uvedena jednotka plochy ($cm_2$), správně má být $cm^2$

- Studie prováděné na zvířatech se týkaly nepochybně potkanů, nikoli krys (což je biologicky odlišný druh)
- Na str. 10, 4. řsh. má být bronchial, nikoli brochial
- Na str. 12 není správně vysvětlen význam zkratky EDTA (namísto ethylene diamine tetraacetate sodium má být: ethylenediamine tetraacetic acid a jestliže je míněna její dvojsodná sůl, pak je nutno předřadit bi-sodium salt of ...)
- Na str. 103 1. řsh. má být lung namísto lug
- Popis obr. 3 na s. 21 je nepřehledný
- Promiskue je mililitr uváděn: /ml/ resp. /mL/
- Správné označení pro látkové množství je mol, nikoli M (je užito střídavě)
- Správný zápis teploty je např.: 37 °C, nikoli 37°C či 37° C.

Zjištěné formální nedostatky však nesnižují úroveň předložené disertace.

**Odborné:**

- V disertační práci postrádám přehled v tisku publikovaných prací disertantky a také přehled o její aktivní účasti na odborných shromážděních a také o autorství patentů.

**Dotazy na disertantku plynoucí z předkládané disertační práce k obhajobě:**

1. Stručně zhodnoťte význam, výhody a nevýhody Vámi použitých buněčných kultur při řešení úkolu.

2. Popište princip radiometrických měření s využitím měkkých beta-zářičů, jimiž jsou označeny molekuly některých organických sloučenin použitých v této disertační práci.

**Závěr**

Disertantka vypracovala na velmi dobré vědecké úrovni přehlednou disertační práci dokumentující metody a výsledky řešení experimentálních studií. Některé poznatky postoupila k publikaci ve vědeckém časopise.

Disertantka splnila plánovaný cíl a tím i zadání dané ji školicím pracovištěm.

Prokázala schopnost práce s literaturou, schopnost experimentálně ověřovat vývody z literatury, výsledky experimentů správně věcně zhodnotit a vyvodit z nich závěry pro praxi.

To vše odpovídá podmínkám kladeným na disertační práci.

**Na základě výše uvedeného doporučuji přijmout předloženou disertační práci k obhajobě.**

Hradec Králové 23.9.2008

Podpis: