

OPONENTSKÝ POSUDEK

na doktorskou dizertační práci
„*Studium lékových interakcí na úrovni jaterních a renálních transportních proteinů*“

Autor práce: Mgr. Leoš Fuksa

Pracoviště: Univerzita Karlova v Praze, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové, Katedra farmakologie a toxikologie

Školitel: Doc. PharmDr. František Štaud, Ph.D., Katedra farmakologie a toxikologie FaF UK v Hradci Králové

Školitel specialista: Doc. MUDr. Stanislav Mičuda, Ph.D., Ústav farmakologie, LFUK v Hradci Králové

Oponent: Doc. MUDr. Ondřej Slanař, Ph.D., Farmakologický ústav I. lékařské fakulty, Univerzita Karlova v Praze

Obecná charakteristika práce:

Dizertační práce Mgr. Leoše Fuksy „*Studium lékových interakcí na úrovni jaterních a renálních transportních proteinů*“ je předložena ve formě komentovaného souboru publikací. Po obsahu a seznamu zkratk následuje úvod, cíle práce a podíl autora na jednotlivých publikacích. Rozsah této teoretické části je 42 stránek (včetně 3 obrázků, 4 tabulek a seznamu použité literatury – celkem 111 citací). Následují kopie 6 publikovaných vědeckých sdělení, 5 originálních experimentálních prací a jeden přehledový článek, zhruba 2,5stránkový souhrn v češtině a angličtině a seznam publikovaných prací autora.

Zhodnocení dizertační práce:

Úvodní kapitola se skládá ze 4 částí. V první části autor stručně a přehledně informuje o obou hlavních skupinách a zástupcích transmembránových transportních proteinů. Další části jsou věnovány přehledu funkcí transportérů v orgánech s eliminační funkcí: játrech, ledvinách a střevě a dále je zmíněna i fyziologická bariérová úloha některých transportérů. V závěrečné části úvodu podává autor přehled mechanismů změn exprese a funkce transportérů jako zdroj lékových interakcí a popisuje preklinické modely jejich studia. ***Celkově je úvod velice dobře zpracován***, není nadbytečně podrobný, přehlednou formou uvádí do dané problematiky a tvoří velmi kvalifikovaný základ pro vlastní odbornou práci.

Základ dizertační práce tvoří 6 publikací s komentáři. V rámci dizertační práce byly studovány různé mechanismy odpovědné za změnu aktivního transportu a následně kinetiky léčiv. V preklinickém výzkumu se autor zabýval studiem transportních drah v návaznosti na interakce indukčního nebo inhibičního charakteru, které jsou známy z klinických pozorování. Byly sledovány změny exprese transportérů navozené podáváním modelových induktorů či inhibitorů se zaměřením na eliminaci substrátů charakteru organických aniontů (metotrexátu, konjugovaného bilirubinu, azitromycinu). Použitými modelovými léčivy v interakčních studiích byly kortikoid dexamethason a antiarytmikum amiodaron.

Experimentální práce přinesly řadu zajímavých a ***hodnotných výsledků***.

Příkladem je v první práci popsané studium exprese lékových transportérů Mdr1 u potkanů po aplikaci dexamethasonu. Jako velmi přínosné výsledky hodnotím průkaz významného indukčního vlivu opakovaného podávání dexamethasonu na jaterní expresi P-glykoproteinu (Mdr1) u potkanů a lokalizace P-gp na kanalikulárních membránách hepatocytů. V další práci autoři pomocí sofistikovaných metod molekulárních a imunohistochemických blíže popisují lokalizaci a distribuci transportéru Mrp2 v jaterním acinu a jejich změnu během podávání dexamethasonu. Velmi přínosná jsou popsaná pozorování inhibice eliminace metotrexátu v játrech vyvolané působením amiodaronu. Autoři v další práci blíže popsali i mechanismus této inhibiční interakce, kde přesně kvantifikovali vliv chronického podání amiodaronu na expresi Mdr1 a Mrp2 transportérů v játrech a ledvinách potkana.

Zhodnocení experimentální části dizertační práce:

Uvedené práce jsou publikace v časopisech s dobrým IF, které provádějí náročná recenzní řízení, proto je úloha oponenta ulehčena. V *diskuzích* těchto publikací se autor věcně a vědecky střízlivě vyjadřuje k získaným výsledkům, *závěry* prací jsou formulovány přiměřeně a vystihují studovanou problematiku. Po *formální stránce* má práce výbornou úroveň, má logické členění, je napsána přehledně, má odpovídající grafickou a obrázkovou dokumentaci.

Připomínky oponenta:

Vyjma minimálního počtu překlepů nemám k předložené práci kritických připomínek.

Dotazy oponenta:

- Ve čtvrté prezentované publikaci je studována kinetická interakce mezi azitromycinem, amiodaronem a metotrexátem u potkana. Jaký je význam této informace pro klinickou praxi ohledně bezpečnosti současného podání těchto léčiv?
- V poslední práci se autoři zabývají potenciací toxicity metotrexátu při současné léčbě dexamethasonem. Je známo, že metotrexát se váže na specifické proteiny uvnitř hepatocytu. Jaká je úloha up-regulace těchto proteinů při vzniku popisované lékové interakce?
- Autoři komplexně zhodnotili a v přehledné tabulce srovnali změny exprese transportérů po podávání dexamethasonu na úrovni mRNA a proteinu. Jaká je korelace mezi detekovanou mRNA a množstvím proteinu?

Zhodnocení publikační aktivity autora:

Předložená dizertační práce má základ v jedné přehledové a pěti experimentálních pracích publikovaných v časopisech s IF (v rozsahu od 1,24 do 3,29). Leoš Fuksa byl v těchto studiích 3x prvním autorem a 3x spoluautorem. Dále je doktorand spoluautorem řady dalších sdělení, takže celkově má Mgr. Fuksa úctyhodný počet 13 autorství resp. spoluautorství na původních pracích publikovaných v odborných časopisech (z toho 12x v časopisech s IF)

Kromě toho je Mgr. Fuksa 4x prvním autorem a 6x spoluautorem abstraktů z mezinárodních konferencí a 5x první autorem a 17x spoluautorem abstraktů z českých a slovenských konferencí. Všechny tyto údaje svědčí o jeho velké aktivitě a také o mimořádné kvalitě spolupracujících pracovních týmů obou školitelů.

Souhrnné hodnocení práce:

Předložená dizertace jednoznačně dokazuje, že doktorand během svého studia pracoval ve zkušeném výzkumném kolektivu, zvládl základy vědecké práce experimentálního charakteru, od koordinaci a plánování experimentů, provádění chirurgických operací, odběr vzorků a jejich analýzy moderními metodami molekulární farmakologie ve všech studiích, tvořících podstatu dizertační práce, až po sepsání rukopisu několika prací, v nichž je hlavní autorem. Jeho vlastní podíl na vzniku prezentovaných publikací je podrobně a přesně uveden na straně 36. Stanovené cíle dizertační práce byly dosaženy výtečným způsobem.

Závěr:

Konstatuji, že oponovaná práce Mgr. Leoše Fuksy splňuje v plném rozsahu požadavky kladené na dizertační práci pro udělení titulu Ph.D. Dokládá schopnost autora úspěšně řešit vědecké problémy, využívat k tomu nejmodernější metody a přístupy a výsledky vhodnou formou prezentovat.

Doporučuji proto kladné přijetí dizertační práce a její podstoupení k dalšímu řízení, jehož zakončením bude udělení hodnosti Ph.D.

V Praze dne 8.3. 2010

Doc. MUDr. Ondřej Slanař, Ph.D.,
Farmakologický ústav 1. lékařské fakulty UK
128 00 Praha 2, Albertov 4