

**UNIVERZITA KARLOVA**  
**FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ**  
Katedra biochemických věd

Studijní program: Zdravotnická bioanalytika

**Posudek oponenta diplomové práce**

Autor/ka práce: **Bc. Lenka Hudáčová**

Vedoucí/školitel/ka práce: Prof. Ing. Vladimír Wsól, Ph.D.

Konzultant/ka práce: RNDr. Eva Novotná, Ph.D.

Rok obhajoby: 2019

Oponent/ka práce: RNDr. Jakub Hofman, Ph.D.

Název práce:

**Vliv inhibice bosutinibu, neratinibu a ibrutinibu na aktivitu vybraných reduktas  
z nadrodiny AKR a SDR**

---

Rozsah práce: počet stran: 76, počet obrázků: 22, počet tabulek: 16, počet citací: 90

Práce je: experimentální

- a) Cíl práce je: zcela splněn
- b) Jazyková a grafická úroveň: výborná
- c) Zpracování teoretické části: výborné
- d) Popis metod: velmi dobrý
- e) Prezentace výsledků: výborná
- f) Diskuse, závěry: výborné
- g) Teoretický či praktický přínos práce: výborný

Doporučuji diplomovou práci k uznání jako práci rigorózní

Případné poznámky k hodnocení: V předložené diplomové práci se autorka věnuje vlivu vybraných inhibitorů tyrozinkináz na aktivitu šesti lidských enzymů z nadrodiny AKR a SDR a možnosti využití interakce ibrutinibu s AKR1C3 pro ovlivnění antracyklinové rezistence. Práce je logicky členěna, jazyková úroveň je velmi vysoká, vyskytuje se pouze minimum překlepů nebo nesprávných formulací. Obsah teoretické části koreluje s obsahem části experimentální. Metodický a experimentální rozsah práce je nadstandardní, výsledky jsou pečlivě popsány a odpovídajícím způsobem diskutovány. Celková úroveň práce je velmi vysoká. Po obsahové ani grafické stránce k práci nemám žádné zásadní výhrady, mám pouze několik připomínek a dotazů.

Dotazy a připomínky:

Připomínky:

- 1) Na konci strany 11 je špatná formulace vyznívající tak, že glykosidázy patří do skupiny reduktáz. V diskutovaném případě redukční deglykosylace je potřeba hydrolytický a redukční metabolismus jasně oddělit, nejedná se o jeden děj, ale o dva sekvenční děje.
- 2) Na straně 18 je enzym superoxid dismutáza prezentován ve formě dvou oddělených slov. V češtině i slovenštině se enzymy píší jednoslovně.
- 3) Na straně 28 v sekci týkající se neratinibu bych uvedl jeho klinickou indikaci.
- 4) V práci jsou místy obrázky s nízkou grafickou kvalitou, např. chemické struktury testovaných léčiv.
- 5) V popisu metodik jsou určité nedostatky. Chybí detailnější popis kultivačních podmínek použité buněčné kultury. Příprava rekombinantních enzymů a transfekce linie HCT116 je

pouze zmíněna, ale není popsána, přičemž chybí odkaz na literaturu. Věta, že inhibitory byly připraveny na FaF (sekce 4.1.3) vyznívá tak, že léčiva byla na FaF syntetizována. V tab. 4 chybí koncentrace zásobního roztoku MgCl<sub>2</sub> a jednotky u enzymu glukóza-6-fosfátdehydrogenázy. U přístrojů chybí uvedení konkrétních modelů.

6) Při sestavování reakčních směsí (Tab. 6, 7 a 8) bych doporučil pro zachování stejných podmínek vnášet 2 ul DMSO též do kontrolních variant bez substrátu a bez enzymu.

7) Tabulka 11 je redundantní, není potřeba uvádět výsledky jednotlivých opakování zvlášť. Jako redundantní vnímám i tab. 12 vs obr. 11 a tabulky vs obrázky v sekcích 5.2.1, 5.2.2 a 5.2.3, kde identická data jsou ukázána vždy v tabulce i v obrázku.

8) Na základě dat uvedených v obr. 19 a 21 si autorka troufá tvrdit, že došlo k intracelulární inhibici AKR1C3 a omezení rezistence k daunorubicinu. Toto bych si bez chybějící statistické analýzy dat s ohledem na zobrazené směrodatné odchytky nedovolil.

9) U jednotlivých výsledků experimentů ve většině případů chybí počet nezávislých opakování a počet biologických replikátů.

10) Očekávaný možný přesah zjištěných výsledků do klinické sféry je v práci obecně nadhodnocován a zjednodušován, doporučil bych být opatrnější ve formulaci závěrů jednotlivých experimentů.

Dotazy:

1) V obrázku 19 a 20 chybí legenda pro hodnotu 0 (první tři plně šedé sloupce). Jedná se o data pro samotný ibrutinib ve stoupající koncentraci?

2) Na straně 35 uvádíte, že jste pro skrínig inhibičních vlastností použila různá množství jednotlivých enzymů v reakci. Proč se množství u jednotlivých enzymů lišila? Může vstupní množství enzymu ovlivnit parametry inhibice (např. hodnotu IC<sub>50</sub>)?

3) V popisu MTT metody zmiňujete inkubační interval 15 min, ten se mi zdá příliš krátký. Přibližně jaká absorbance byla dosahována u neovlivněné kontroly (100% viability) při použití tohoto intervalu? Jaké riziko hrozí při příliš nízké nebo naopak příliš vysoké hodnotě absorbance?

4) Jakým způsobem, resp. podle jakého klíče probíhal výběr látek pro testování? Byla při výběru využita vhodná in silico metoda (např. molekulární dokování) pro odhad interakce?

5) Jaké jsou plasmatické hladiny ibrutinibu u lidí? Odhadnete, zda je Vámi popsána inhibice potencionálně klinicky relevantní?

**Celkové hodnocení, práce je: výborná, k obhajobě: doporučuji**

V Hradci Králové dne 28.5.2019

.....  
podpis oponentky / oponenta