

**UNIVERZITA KARLOVA**  
**FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ**

Katedra farmakologie a toxikologie

Studijní program: Farmacie

**Posudek oponenta diplomové práce**

Autor/ka práce: **Gabriela Burianová**

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

Rok obhajoby: 2020

Garant práce:

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

Název práce:

**Flow-cytometrická analýza inhibičního vlivu nových cílených léčiv na aktivitu  
ABC lékových efluxních transportérů**

---

Rozsah práce: počet stran: 45, počet obrázků: 18, počet tabulek: 2, počet citací: >40

**Hodnocení práce:**

- a) Odborná úroveň a zpracování teoretické části: velmi dobrá
- b) Náročnost použitých metod: výborná
- c) Zpracování metodické části (přehlednost, srozumitelnost): výborné
- 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: velmi dobrá
- h) Srozumitelnost, výstižnost a adekvátnost závěrů: výborná
- 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): výborná

Doporučuji diplomovou práci k uznání jako práci rigorózní

Případné poznámky k hodnocení: Diplomová práce Gabriely Burianové tématicky navazuje na oblast dlouhodobě řešenou skupinou dr. Jakuba Hofmana. Cílem práce bylo testovat schopnost vybraných cíleně působících chemoterapeutik (alisertib, ensartinib, entrectinib, talozaparib, tepotinib a vistusertib) inhibovat efluxní lékové ABC transportéry, ABCB1, ABCG2 a ABCB1, v buněčné linii MDCKII. Filosofii tématu je využití synergistického účinku kombinace chemoterapeutik, kdy testovaná léčiva by na jedné straně měla inhibovat efluxní pumpu, a tím snížit farmakorezistenci nádorových buněk, a zároveň by měla projevit svůj protinádorový efekt. Zpracování práce je na velmi dobré úrovni jak po jazykové, strukturální, tak i výsledkové stránce. Studentka jde přímo k meritu věci, přičemž uvádí všechny podstatné informace pro pochopení a nezatěžuje čtenáře nepodstatnými detaily. Předkladatelka diplomové práce se ale nevyvarovala určitých formálních chyb (ale zdá se mi, že ty právě dokazují, že diplomantka práci zpracovávala samostatně) a diskuse by měla jít trochu více do hloubky (viz připomínky a otázky).

Komentáře k formální stránce:

1. Občas se vyskytují určité nelogičnosti v textu. První věta abstraktu "patří k druhým nejčastějším příčinám umrtí". Asi by bylo vhodnější jednotné číslo a formulovat to následovně "je druhou nejčastější příčinou". Dalším příkladem je věta na str. 10 "V posledních dekádách se vyvíjí nové látky, které by působily specifičtěji...". Lepší formulace by byla "...jsou vyvíjeny nové látky, které působí specifičtěji...". Nebo na straně 11 "ABC transportéry..., které mění energii skladovanou ve formě ATP na pohyb molekul přes membrán". Lepší by asi bylo slovo "využívají" a "pro transfer". A poslední příklad "Po vazbě a hydrolýze ATP je zdrojem energie pro transport substrátu" na straně 12.
2. Dokladovat celosvětovou závažnost nádorových onemocnění daty z USA není špatně, ale spíše bych uvedl data česká ([https://www.uzis.cz/sites/default/files/knihovna/NZIS\\_REPORT\\_c\\_R02\\_09\\_16\\_LPZ.pdf](https://www.uzis.cz/sites/default/files/knihovna/NZIS_REPORT_c_R02_09_16_LPZ.pdf)) nebo evropská.
3. Na straně 14 uvádíte, že ABCB1, ABCG2 a ABCC1 se podílejí na detoxifikaci hydrofóbních molekul v játrech, placentě či HEB. Asi by bylo správnější v případě HEB a placenty spíše hovořit o omezování distribuce (i když detoxikační funkce samozřejmě není vyloučena). A také je zde otázka, zda by nebylo lepší užít spíš pojem "detoxifikace od" než detoxifikace molekul. Navíc lokalizace ABCC1 je trochu komplikovanější (může být lokalizován i bazolaterálně/bazálně) a efluxní transportéry mohou ovlivňovat farmakokinetiku na úrovni absorpce, distribuce a exkrece.
4. Tabulky 1 i 2 jsou rozdělené na dvě stránky. Tabulka začínající další straně by měla opět nést název s dovětkem pokračování.
5. Popisek obrázku 7 je na jiné straně než samotný obrázek.
6. Zavedla jste zkratky DRN a MTX, ale v textu je používáte střídavě s celými názvy léčiv.
7. V diskusi jsou do značné míry zopakovány výsledky z úvodu.

Dotazy a připomínky:

1. Jakým způsobem bylo dosaženo u třetí generace inhibitorů ABC transportérů, že mají omezenou schopnost interakcí, jak uvádíte na straně 16?
2. Předpokládám, že pro dosažení účinku musí testované inhibitory prostoupit cytoplasmatickou membránou. Jaký mechanismus se v tomto procesu uplatně? Je možné zapojení nějakého influxního transportéru?
3. Proč jste nasazovali odlišný počet MDCKII-parentních, ABCB1-, ABCG2- nebo ABCC1-transfekovaných MDCKII na jamku? Může počet nasazených buněk ovlivnit výsledky získané flow-cytometrickou detekcí?
4. Jsou obecně IC50 závislé na zvoleném experimentálním systému? Pokud ano, má smysl porovnávat vaše získané výsledky s výsledky získanými v jiných laboratořích pomocí jiných metod?
5. A v tomto kontextu má smysl dedukovat, že když vidíte určitou IC50 v MDCKII buňkách a testované léčivo dosahuje jistých plasmatických koncentrací, že in vitro pozorovaná interakce má/nemá relevanci k situaci in vivo? Vždy asi bude záležet na míře exprese transportérů nádorem.
6. Má flow-cytometrická detekce nějaké výhody oproti měření fluorescence v buněčném lyzátu s následnou normalizací na protein? Nemůže být ovlivněna procesem trypsinizace či časem od ukončení akumulace do vlastní detekce, přestože je vše provedeno na ledu?
7. Není o některých z testovaných látek známo, že by způsobovaly indukci ABC transportérů?

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

V Hradci králové dne 20.5.2020

.....  
podpis oponentky / oponenta