

Posudek oponenta

na disertační práci
Mgr. Kristýny Krasulové

"Studium interakcí léčiv s enzymy metabolismu cizorodých látek"

Předložená disertační práce se zabývá studiem vlivu stereoisomerie na možné lékové interakce, zprostředkované ovlivněním různých forem lidských jaterních cytochromů P450. Zvolené téma je nepochybně velmi aktuální. Pro studium této problematiky byla použita adekvátní metodika: měření inhibičního efektu vybraných léčiv, resp. jejich enantiomerů, na enzymovou aktivitu lidských jaterních mikrosomů vůči substrátům, charakteristickým pro jednotlivé formy cytochromů P450, které potenciálně hrají roli v metabolismu léčiv.

Práce je sepsána v českém jazyce, je vcelku přehledná a čtivá. Text práce je - dnes již poněkud atypicky - „standardně členěn“ na krátký úvod, cíl práce, přehled literatury (označený jako „teoretická část“) o délce 34 stran, experimentální část popisující použitý materiál a metody (15 str.), výsledky (21 str.) a diskusi (7 str.), dále shrnující diskusi označenou jako „závěr“ (3 str.), souhrn/summary a „technické části“ jako je seznam literatury (189 citací) a seznam publikovaných prací disertantky (4 práce přímo související s tématem disertace, z toho dvě prvoautorské, a další dvě práce z oblasti xenobiochemie, 7 posterů a orálních vystoupení na odborných fórech). Celkový rozsah práce je 113 stran, 22 obrázků a 15 tabulek.

Z věcného hlediska je možno konstatovat, že přehled literatury podává stručné shrnutí dostupných informací o hlavních formách lidských cytochromů P450, podílejících se na metabolismu xenobiotik, dále se zabývá přehledem možností lékových interakcí, doplněným poněkud podrobnějšími pasážemi o stereoisomerii léčiv a stereospecifickém metabolismu léčiv. Zde bych snad podotkl, že bych byl považoval za účelnější, aby se text více zaměřil právě na tuto oblast, která je jádrem disertace, a je podstatně méně známá, než předchozí pasáže. Autorka se omezuje spíše na uvedení „příkladů“ a nevytkla si zde za cíl shrnout současné znalosti. Z formálního hlediska se mi - s ohledem na celkový rozsah textu i na rozsah této části disertace - nezdá příliš šťastné členění a číslování „na šest úrovní“, zejména když mnohé takto označované „kapitoly“ jsou opravdu pouhé odstavce o rozsahu několika řádků (např. 3.3.3.1.1.1 nebo 3.3.3.2.1.2); pravděpodobně by zde postačilo vyznačení obsahu odstavce např. zvýrazněním příslušného termínu tučným řezem písma.

Výsledková část vcelku přehledně prezentuje získaná data, jejichž diskusi a vyvozované závěry považuji za relevantní a adekvátní. Z pohledu obhajoby práce jsem při čtení disertace

poněkud postrádal informaci o tom, která z prezentovaných dat již byla publikována a kde, resp. jak souvisejí práce autorky uvedené na konci disertace s jednotlivými prezentovanými experimenty. Domnívám se, že by bylo vhodné, aby disertantka tyto informace, stejně jako informace o tom, jaký byl její vlastní podíl na uvedených publikacích, resp. prezentovaných výsledcích, uvedla v průběhu obhajoby.

Uvedené připomínky nijak nesnižují celkově vysokou úroveň předložené disertační práce, kterou proto **doporučuji k obhajobě** a v případě úspěšné obhajoby jako základ k získání akademického titulu Ph.D podle §47 zákona o vysokých školách (Zák. 111/1998 Sb. v platném znění)

K práci a její obhajobě mám následující dotazy:

1. V práci je použito indikačních pro jednotlivé formy cytochromů P450, které umožňují sledovat jejich aktivitu i ve směsných mikrosomech. Obvykle stačí vědět, že takové substráty jsou metabolizovány výlučně nebo skoro výlučně danou formou. S ohledem na předkládané výsledky resp. jejich interpretaci by však také bylo dobré vědět, zda tyto substráty nemohou *ovlivňovat aktivitu jiných forem* (např. inhibici). Jsou taková data známa z literatury?
2. S odkazem na obr. 10, tab. 8. a obr. 11 se na str. 61 práce uvádí, že (2S, 4R)-(-)-KET vykazoval statisticky signifikantně silnější inhibici pro midazolam než druhý testovaný stereoisomer. Data na zmiňovaném obrázku 10 (a koneckonců ani číselné hodnoty v tabulce 8) mne o tom nijak nepřesvědčují. (Předpokládám, že jde o prostřední panel ve sloupci A obr. 10.) Bylo by možno v rámci obhajoby prezentovat tento výsledek v „plné velikosti“, včetně fitované křivky, z níž byly odečteny hodnoty pro tabulku 8? V jakém vztahu jsou obr. 10 a tab. 8 a na druhou stranu obr. 11, 12 a tab. 9? Jedná se o data z týchž experimentů (jen jinak zpracovaná), nebo jde o nezávislé experimenty?
3. Z mého pohledu by se jevilo zajímavé ověřit a vysvětlit metodou molekulárního modelování také alespoň některý z výsledků, kde nebyly pozorovány větší rozdíly mezi enantiomery, které přitom všechny inhibují. Byl učiněn nějaký takový pokus?

V Praze, 17. 10. 2017

Prof. RNDr. Jiří Hudeček, CSc.