



UNIVERZITA KARLOVA  
Lékařská fakulta  
v Hradci Králové

## Zápis o obhajobě disertační práce

Akademický rok: 2022/2023

**Jméno a příjmení studenta:** PharmDr. Barbora Vítovcová  
**Identifikační číslo studenta:** 71812154

**Typ studijního programu:** doktorský  
**Studijní program:** Lékařská biologie  
**ID studia:** 596867

**Název práce:** Studium vlivu flubendazolu na buňky glioblastoma multiforme in vitro a in vivo

**Pracoviště práce:** Ústav lékařské biologie a genetiky (15-120)

**Jazyk práce:** čeština

**Jazyk obhajoby:** čeština

**Školitel:** prof. PharmDr. Emil Rudolf, Ph.D.

**Oponent(i):** doc. MUDr. Iva Slaninová, Ph.D.

doc. RNDr. Pavla Jendelová, Ph.D.

**Datum konání obhajoby:** 25.09.2023 **Místo obhajoby:** Hradec Králové

**Termín:** řádný

**Průběh obhajoby:** Obhajobu zahájil předseda komise pro obhajoby prof. PharmDr. Emil Rudolf, Ph.D. Přivítal všechny přítomné a konstatoval, že byly splněny všechny zákonné požadavky pro konání obhajoby, informace o konání obhajoby byla zveřejněna a vedení fakulty neobdrželo žádné námítky. Z důvodu možného střetu zájmu předal vedení obhajoby prof. MUDr. Červinkovi. Prof. Červinka přivítal a představil členy komise a oponenty. Přivítal proděkana prof. M. Kašku, referentku děkanátu paní Malou a další hosty. Jako zapisovatelku navrhnul doc. Věru Královou a požádal ji o připravení zápisu a navrhnul ji také jako skrutátora. Oba tyto návrhy komise přijala. Následně seznámil přítomné se základními životopisnými údaji uchazečky. Poté požádal garanta oboru a předsedu OR prof. Rudolfa, aby přednesl stanovisko oborové rady k předložené disertační práci. OR jednoznačně doporučuje disertační práci k obhajobě. Následně požádal školitele prof. E. Rudolfa a školitelku konzultantku RNDr. Veroniku Skarkovou aby přednesli stanovisko k předložené disertační práci. Poté přednesla dr. Vítovcová výsledky své disertační práce. Následně požádal oponentku prof. MUDr. Ivu Slaninovou z Biologického ústavu MU v Brně o přečtení posudku na disertační práci a sdělení případných dotazů. Posudek prof. Slaninové byl jednoznačně kladný. Dr. Vítovcová odpověděla na následující dotazy prof. Slaninové:  
1. Autorka v kapitole Materiál a metody uvádí „Všechny experimenty na takto získaných primárních kulturách byly provedeny u buněk v nižším stupni subkultivací“. Které pasáže kultur z nádorů pacientů byly v experimentech použity? Odpověď: Jednalo se o co

nejnižší pasáže, obvykle 2. – 6. pasáž. Přes snahu o co nejkratší interval se nelze vyhnout určité heterogenitě vzorků.

2. Obr. 9, 11, 12, 15 a 16 ukazují buňky po značení imunofluorescencí, obraz není typický, je to černobílý negativ? Odpověď: Tento způsob zobrazení fluorescenčního signálu je zvláště vhodný u objektů velmi tenkých, jako jsou právě vlákna cytoskeletu, obraz je ostřejší a jednotlivá vlákna lépe rozlišitelná.

3. Co přesně vyjadřují číselné hodnoty u jednotlivých bandů v obrázcích výsledků western blot analýzy – obr. 13, 14, 19-21? Odpověď: Jedná se o hodnotu intenzity pixelů vztaženou vůči intenzitě kontrolních pruhů.

4. Autorka v Úvodu zmiňuje špatnou biodostupnost a nerozpustnost Flubendazolu ve vodě, ale i možnost tuto dostupnost zvýšit. Mohla by uvést nějaké možnosti, jak biodostupnost a tím efektivitu léčby zvýšit? Jak je to s přestupem přes hematoencefalickou bariéru? Odpověď: Zvýšení biodostupnosti I benzinidazolových anthelmintik je předmětem výzkumu. Lze ji zvýšit například navázáním na nanočástice. Přes hematoencefalickou bariéru flubendazol přestupuje ochotně. Podobně je to s mebendazolem, který již je předmětem klinické studie u dětských nádorů mozku.

5. Jsou efekty na nádorové buňky působeny Flubendazolem přímo, nebo jsou důsledkem jeho interakce s tubulinem? Odpověď: Primárním cílem flubendazolu jsou mikrotubuly. Ty se účastní celé řady různorodých dějů v buňce, proto lze očekávat a bylo to také popsáno, že působení mikrotubulárních inhibitorů je velmi komplexní. Kromě ovlivnění buněčného dělení, adheze a migrace je to i ovlivnění signálních drah, např. narušením transportu signálních molekul po mikrotubulech.

Požádal oponentku doc. RNDr. Pavlu Jendelovou z Institutu experimentální medicíny AV ČR o přečtení posudku na disertační práci a sdělení případných dotazů. Posudek doc. Jendelové byl jednoznačně kladný. Dr. Vítovcová odpověděla na všechny dotazy doc. Jendelové:

1. Neuvažovali jste o nějaké assay zaměřené na senescenci buněk, zejména primárních kultur? Odpověď: Ano, připravujeme metodiku pro stanovení buněčné senescence, její navození bylo již v případě flubendazolu popsáno.

2. Podle čeho jste vybírali primární kultury (kromě množství a růstu)? Někjaká jejich charakteristika by se do metodiky hodila, aby bylo možné porovnat jejich markery se získanými výsledky, případně tam najít nějakou korelaci mezi jejich znaky a účinností FLU.

Odpověď: Ve spolupráci s Ústavem patologie byla u primárních kultur provedena imunohistochemická a molekulární genetická analýza, data jsou k dispozici, ale zatím nebyla zpracována případná korelace s našimi výsledky.

3. Zkoušeli jste, jestli by mělo společné podání TMZ a FLU nějaký synergický efekt? Odpověď: Ano, tyto pokusy proběhly a prokázaly synergický efekt flubendazolu a temozolomidu, a to i při velmi nízkých koncentracích obou látek. Práce pokračují a budou publikovány.

4. Myslíte si, že exprese STAT3 by měla smysl jako další marker v personalizované medicíně (jako je IDH, MGMT, EGFRvIII), nebo je to zatím předčasná úvaha? Ze stanovení exprese STAT3 u patientské kohorty vyplynulo například, že exprese této molekuly v patientských vzorcích stoupá s postupně prováděnými resekce. Do budoucna lze očekávat, že by se mohlo jednat o klinicky významný marker.

Následně Prof. Červinka otevřel diskusi. Zazněly tam tyto dotazy, na které dr. Vítovcová odpověděla:

1. Prof. Rudolf se dotázal, zda již probíhají klinické studie testující účinky flubendazolu. Odpověď: Zatím je v klinických studiích testován blízký příbuzný mebendazol, tyto studie jsou v běhu, výsledky se teprve očekávají.

V této souvislosti bylo také zmíněno, že flubendazol v ČR zatím není schválen pro použití v humánní medicíně, což komplikuje provedení studie.

2. Prof. Červinka se ptá na vhodnost jednotlivých pokusných modelů a jejich srovnání. Odpověď: Doktorandka doporučuje kombinace všech dostupných modelů – 2D, 3D I in vivo modely pro získání celkového obrazu. Diskutuje vhodnost 2D modelu pro mechanistické studie a nezastupitelnost 3D modelů a in vivo modelů pro simulaci komplexního mikroprostředí.

3. Doc. Roušar vznesl dotaz týkající se dosažitelných koncentrací flubendazolu v plazmě. Odpověď: Tyto koncentrace jsou v nižších jednotkách mikromolů. Dosažené výsledky jsou tedy klinicky relevantní.

4. Prof. Smolej poukázal na klinický význam inhibitorů některých molekul regulujících apoptózu a zeptal se, co konkrétně vedlo k aktivaci kaspáz. Odpověď: Doktorandka diskutovala mechanismy známé z literatury, v této práci však nebyly tyto molekuly předmětem testování.

5. Další dotaz prof. Smoleje směřoval ke dráze upstream od STAT3 – co je známo o zapojení vyšších členů této signální dráhy?

Odpověď: Doktorandka diskutovala roli Akt kinázy a EGF signalizace u glioblastomů a jejich souvislosti se STAT signalizací.

Prof. Červinka ukončil veřejnou část obhajoby. Požádal, aby hosté opustili místnost a na chodbě počkali na zveřejnění výsledků.

V následné neveřejné části byla obhajoba PharmDr. Barbory Vítovcové vyhodnocena a komise na základě hlasování aklamací doporučila udělení titulu Ph.D. Pro hodnocení „prospěla“ hlasovalo všech 7 z přítomných 7 členů komise.

Prof. Červinka veřejně vyhlásil výsledek obhajoby a poblahopřál dr. Vítovcové k úspěšné obhajobě

Závěrem prof. Červinka poděkoval oponentům, členům komise za aktivní přístup a obhajobu ukončil.

<b>Výsledek obhajoby:</b>	prospěl/a (P)
<b>Předseda komise:</b>	prof. PharmDr. Emil Rudolf, Ph.D. ....
<b>Členové komise:</b>	prof. MUDr. RNDr. Miroslav Červinka, CSc. ....
	doc. RNDr. Věra Králová, Ph.D. ....
	prof. MUDr. Lukáš Smolej, Ph.D. ....
	doc. RNDr. Pavla Jendelová, Ph.D. ....
	doc. RNDr. Tomáš Roušar, Ph.D. ....
	prof. RNDr. Lenka Skálová, Ph.D. ....