

Oponentský posudek disertační práce Mgr. Veroniky Forstové „Faktory ovlivňující metabolismus anthelmintik“

Hodnocení formální stránky disertační práce:

Předložená disertační práce má celkem 152 stran. Z celkového rozsahu je 44 stran věnováno teoretické části, 12 stran výsledkové části a diskusi, která podává stručný komentář k vlastním 6 původním vědeckým pracím publikovaným v odborném tisku. Dalších 64 stran tvoří kopie těchto prací a zbytek disertační práce tvoří závěr, přehled publikačních výstupů, souhrny, seznam zkratk a seznam použité literatury.

Uspořádání práce je přehledné a práce je velmi pečlivě zpracována, což značně usnadnilo oponenturu. Jednotlivé části práce jsou obsahově i rozsahem vyvážené. Text je po stylistické stránce vynikající a odborné vyjadřovací schopnosti Mgr. Forstové jsou vysoce nadprůměrné. Nepátrám systematicky po překlepech, ale na žádný jsem v práci nenarazil!

Hodnocení obsahové stránky disertační práce:

Mgr. Forstová se ve své disertační práci zaměřila především na studium změn v aktivitě biotransformačních enzymů I. i II. fáze a studium změn v metabolismu anthelmintik vlivem parazitických infekcí (dikrocelióza, hemonchóza) u ovce domácí a ovce muflon. Změny v aktivitě celé řady mikrosomálních a cytosolických enzymů přítomných v játrech a střevní mukóze byly sledovány na úrovni *in vitro* pomocí vhodných modelových substrátů těchto enzymů. V jedné z prací byly studovány změny exprese proteinu CYP1A metodou Western blotting a změny aktivit biotransformačních enzymů I. i II. fáze v játrech a střevě ovce muflon po jednorázovém podání vysoké dávky albendazolu.

Další část disertační práce se věnuje změnám ve farmakokinetice flubendazolu u ovcí v závislosti na věku a pohlaví zvířat. V samostatné publikaci jsou uveřejněny výsledky vývoje a validace originální enantioselektivní HPLC metody na stanovení flubendazolu a jeho metabolitů fáze I v krevní plazmě.

Publikované práce přinášejí celou řadu originálních a potenciálně v praxi využitelných poznatků. Pro farmakoterapeutickou praxi helmintóz flubendazole jsou podle mého názoru velmi přínosné zejména výsledky farmakokinetické studie dokládající výrazný vliv věku na farmakokinetiku léčiva u ovce domácí.

Hodnocení publikační aktivity studentky:

Mgr. Forstová je první autorkou dvou původních vědeckých prací v oponovaných časopisech: Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics, který má IF 1,58, a The Open Veterinary Science Journal.

Dále je spoluautorkou 6 původních vědeckých prací v časopisech s impakt faktorem: Veterinary Parasitology (2 práce, IF 2.04), Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics (IF 1.58), Veterinární medicína (IF 0,64), J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci (IF 2,5), Research in Veterinary Science (1,38) a dvou prací v oponovaných časopisech Drug Metabolism Letters a Chromatographia.

Většina publikací je v časopisech s významným impakt faktorem a s odpovídající náročností recenzního řízení, která je zárukou kvality publikovaných prací. Kritéria pro publikační výstupy tedy Mgr. Forstová vysoce překročila.

Připomínky a dotazy:

Teoretická část je zpracována v souladu s hlavním zaměřením experimentální části na obecný popis faktorů ovlivňující biotransformaci a na biotransformaci anthelmintik. Jelikož je u *in vitro* studií biotransformace žádoucí extrapolace výsledků směrem k možným dopadům na farmakokinetiku/farmakodynamiku a ta je v publikacích skutečně diskutována, uvítal bych více informací o základních farmakokinetických vlastnostech studovaných léčiv (ADME).

Otázka 1:

V práci I jste pozorovali zvýšenou biotransformašní aktivitu FMO *in vitro* vůči thiobenzamidu a v soulase s tím i mírně zvýšenou rychlost tvorby (+)-ABZSO.

Byla publikována *in vivo* studie, která by potvrdila, že uvedené změny se projeví zvýšenými koncentracemi (+)-ABZSO v plazmě muflona?

Otázka 2:

Podobný dotaz směřuji i na ostatní enzymy, u nichž byla vlivem helmintóz výrazněji změněna aktivita v experimetu *in vitro* (GST, UGT atd.). Publikoval někdo farmakokinetické studie s modelovými substráty těchto enzymů u zvířat s dikroceliózou?

Pokuste se o extrapolaci zjištění o zpomalené redukci flubendazolu v práci III do podmínek *in vivo* – existují nějaká data?, jaký je Váš odhad?

Otázka 3:

Podle čeho jste zvolili koncentrační rozmezí ABZ v inkubačních směsích? Má vztah ke koncentracím v místě biotransformace dosaženým při farmakoterapii?

Související otázka: V práci II jste získali překvapivě přesné odhady K_M a V_{max} charakterizující rychlost tvorby ABZSO a ABZSO₂. Všechny koncentrace substrátu byly ale nižší než K_M . Proč jste nepoužili i vyšší koncentrace?

Otázka 4:

Odhad koncentrací léčiva „v místě enzymu“ může být u lipofilních léčiv s vysokou vazbou na proteiny problematický. V inkubačních směsích s nízkou koncentrací proteinů může být vztah mezi teoretickou koncentrací léčiva vypočítanou podle ředění a skutečnou koncentrací nejasný. To se může týkat albendazolu a flubendazolu. Prosím o komentář k tomuto problému.

Závěr a doporučení:

Předložená disertační práce má mimořádnou kvalitu. Mgr. Forstová prokázala schopnost dobře teoreticky a prakticky zvládnout náročný výzkumný projekt a celou řadu experimentálních technik. Disertační práce a publikace dokazují rozhled v dané problematice a výborné odborné vyjadřovací schopnosti. Publikáční aktivita vysoce překročila požadavky na studenty PGS.

Proto vřele doporučuji komisi pro obhajobu, aby přijala hodnocení „prospěla“ a udělila Mgr. Forstové akademický titul Ph.D.

V Hradci Králové, 10.9. 2009

Doc. Ing. Jaroslav Chládek, Ph.D.

Ústav farmakologie, Ústav lékařské chemie

Univerzita Karlova v Praze

Lékařská fakulta v Hradci Králové