

OPONENTSKÝ POSUDEK

na doktorskou dizertační práci
„Vliv cholestatického poškození jater na eliminaci a transport léčiv“

Autorka práce: Mgr. Eva Brčáková

Pracoviště: Universita Karlova v Praze, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové, Katedra farmakologie a toxikologie

Školitel: Doc. PharmDr. František Štaud, Ph.D., Katedra farmakologie a toxikologie FaF UK v Hradci Králové

Školitel specialista: Doc. MUDr. Stanislav Mičuda, Ph.D., Ústav farmakologie, LFUK v Hradci Králové

Oponent: Doc. MUDr. Ivan Tilšer, CSc., Katedra farmakologie a toxikologie FAF UK v Hradci Králové

Obecná charakteristika práce:

Dizertační práce Mgr. Evy Brčákové „Vliv cholestatického poškození jater na eliminaci a transport léčiv“ je předložena ve formě komentovaného souboru publikací. Po obsahu a seznamu zkratk následuje úvod, cíle práce a podíl autorky na jednotlivých publikacích. Rozsah této teoretické části je 45 stránek (včetně 6 obrázků, 2 tabulek a seznamu použité literatury – celkem 94 citací). Následují kopie 3 publikovaných vědeckých sdělení, každá s českým komentářem k textu, zhruba 3 ½ stránkový souhrn v češtině a angličtině a seznam publikovaných prací autorky.

Zhodnocení dizertační práce:

Úvodní kapitola se skládá ze 4 částí. V první části autorka stručně a přehledně informuje o morfoloické struktuře a funkci jater. Další části jsou věnovány přehledu bazolaterálních a kanalikulárních transportních proteinů v jaterních buňkách, a také ovlivnění těchto transportérů při cholestáze. V závěrečné části úvodu podává autorka přehled preklinických modelů studia vlivu cholestázy na farmakokinetiku léčiv. **Celkově je úvod velice dobře zpracován**, není nadbytečně podrobný, přehlednou formou uvádí dané problematiku a tvoří velmi kvalifikovaný základ pro vlastní odbornou práci.

Základ dizertační práce tvoří kopie 3 publikovaných vědeckých studií s komentáři. V rámci dizertační práce byly studovány oba mechanismy odpovědné za tvorbu a sekreci žluče – transportní proteiny a hematobiliární bariéra. Byly sledovány obstrukční cholestázou navozené změny exprese transportérů a integrity hematobiliární bariéry a změny farmakokinetiky léčiv, které jsou substráty pro vybrané transportní proteiny.

Práce přinesla řadu zajímavých a **hodnotných výsledků**, z nichž zmíním jen některé. **V první studii** se autoři neomezili pouze na sledování cholestázou navozených změn exprese P-gp v jaterních a ledvinných buňkách, ale prioritní bylo paralelní sledování funkce P-gp pomocí určení biliární a renální exkrece rhodaminu 123, substrátu P-glykoproteinu. Prioritní zjištění např. je, že akutní cholestáza vyvolala zvýšenou expresi P-gp v játrech, ale biliární

ekrece rhodaminu 123 přitom klesla, patrně mj. v důsledku ovlivnění dalších transportérů v jaterní buňce. Data z této studie přispívají k vysvětlení, proč je během akutní cholestázy poškozena eliminace substrátů P-glykoproteinu.

Z výsledků **druhé studie** vyplývá, že melibiózo-rhamnózový permeabilní test je vhodný pro detekci a hodnocení cholestázou indukovaného poškození hematobiliární bariéry.

Třetí studie prioritně popisuje významné změny ve farmakokinetice metotrexátu během obstrukční a intrahepatální cholestázy. Změny farmakokinetiky metotrexátu a odpovídající změny exprese transportérů ukazují na významné odlišnosti dvou široce používaných modelů cholestázy. Řada změn exprese transportních proteinů koreluje se změnami farmakokinetiky, některé nesrovnalosti v charakteru kinetických výsledků a dat ze studií exprese naznačují důležitost kinetických studií pro určení konečného vlivu cholestázy na eliminaci léčiva.

Zhodnocení experimentální části dizertační práce: Uvedené práce jsou publikace v časopisech s IF, které provádějí náročné recenzní řízení, proto je úloha oponenta ulehčena. **V diskusích** těchto publikací se autorka vědecky střídavě vyjadřuje k získaným výsledkům, **závěry** prací jsou formulovány přiměřeně a vystihují studovanou problematiku. **Po formální stránce** má práce dobrou úroveň, má logické členění, je napsána přehledně, má odpovídající grafickou a obrázkovou dokumentaci.

Připomínky oponenta:

Mimo nečetných překlepů nemám k předložené práci kritických připomínek.

Dotazy oponenta:

- V diskusi první práce uvádíte, že rozdíl mezi celkovou tělesnou clearance rhodaminu 123 a součtem jaterní a ledvinné clearance rhodaminu 123 se může připisovat střevní exsorpci clearance, již dříve popsán jinými autory v citaci 22 (Yumoto a spol. 2001). I když tato střevní clearance rhodaminu 123 nebyla z pochopitelných důvodů bezprostředním, detailním předmětem Vašeho bádání, z Vašich výsledků vyplývá, že se jedná o děj kvantitativně velmi významný. Jaké transportéry by se mohly při tomto ději uplatňovat?
- Zkusili jste si orientačně vyhodnotit statistickou významnost rozdílů v hodnotách této „střevní exsorpci clearance“ mezi skupinou kontrolní a BDO7? Předpokládám, že tento výsledek by nebyl publikovatelný, ale mohl by být užitečný při případné formulaci následných pracovních hypotéz při plánování dalších pokusů.
- Uvádíte, že metotrexát se recentně léčebně užívá u biliární cirhózy. Je známo, jak je tímto autoimunním onemocněním ovlivněna farmakokinetika metotrexátu u lidí?
- Rhodamin 123 je běžně uváděn jako selektivní substrát P-gp. Souhlasíte s tímto zařazením ve světle výsledků Vašich pokusů?

Zhodnocení publikační aktivity autorky:

Předložená dizertační práce má základ ve třech kvalitních pracích, které byly publikovány v časopisech s IF (1,765 – 2,275). E. Brčáková byla v těchto studiích 1x první autorkou a 2x spoluautorkou. Práci I byla udělena první cena v soutěži o nejlepší práci v kategorii Experimentální farmakologie za rok 2008 Českou společností pro experimentální a klinickou farmakologii a toxikologii České lékařské společnosti J.E.Purkyně. Navíc je dizertantka spoluautorkou řady dalších sdělení, takže celkově má Mgr. Brčáková úctyhodný počet 12 spoluautorství původních prací publikovaných v odborných časopisech (z toho 11x v časopisech s IF)!

Kromě toho je Mgr. Brčáková 4x první autorkou a 4x spoluautorkou abstraktů z mezinárodních konferencí a 5x první autorkou a 16x spoluautorkou abstraktů z českých a slovenských konferencí. Všechny tyto údaje svědčí o její velké aktivitě a také o mimořádné kvalitě spolupracujících pracovních týmů obou školitelů.

Souhrnné hodnocení práce:

Předložená dizertace jednoznačně dokazuje, že doktorandka během svého studia pracovala ve zkušeném výzkumném kolektivu, zvládla základy vědecké práce experimentálního charakteru, od provádění chirurgických operací, odběru vzorků, a jejich analýzy moderními metodami molekulární biologie ve všech třech studiích, tvořících podstatu dizertační práce, až po koordinaci experimentů a sepsání rukopisu práce III, v níž je hlavní autorkou. Její vlastní podíl na vzniku prezentovaných publikací je zcela přesně uveden na straně 35. Nelze proto než konstatovat, že stanovené cíle dizertační práce byly dosaženy výtečným způsobem.

Závěr:

Konstatuji, že oponovaná práce Mgr. Evy Brčákové splňuje v plném rozsahu požadavky kladené na dizertační práci. Dokládá schopnost autorky úspěšně řešit složité vědecké problémy, využívat k tomu nejmodernější metody a přístupy a výsledky vhodnou formou prezentovat. Práce má nejen hodnotu jako kvalifikační spis, ale představuje i značný vědecký přínos.

Doporučuji proto kladné přijetí dizertační práce a její podstoupení k dalšímu řízení, jehož zakončením bude udělení hodnosti PhD.

V Hradci Králové dne 25.11.2009

Doc. MUDr. Ivan Tilšer, CSc.
Katedra farmakologie a toxikologie
UK v Praze, FaF v Hradci Králové

