

Název rigorózní práce **Transport of NSAIDs across a blood-brain barrier in vitro model based on cell line PBMEC/C1-2**

Uchazeč **Mgr. Iveta Nováková**

Oponent **PharmDr. Lukáš Červený, Ph.D.**

Posudek oponenta rigorózní práce

Rigorózní práce Mgr. Ivety Novákové s názvem "Transport of NSAIDs across a blood-brain barrier in vitro model based on cell line PBMEC/C1-2" je zpracována na 83 stranách, obsahuje 12 obrázků, pět výsledkových grafů, 13 tabulek a 10 stran příloh. Na předkládané rigorózní práci oceňuji zvolené téma (v dané oblasti existuje pouze omezený počet publikací) a že si předkladatelka projektu v průběhu řešení projektu osvojila práci s buňčnými kulturami a interpretaci analytických dat. Z formálního pohledu je na výbornou zpracován úvod, cíle, metody a závěr předkládané práce. Výsledková část a diskuse je ovšem psána velice nepřehledně. Při vypracovávání předkládané práce autorka čerpala z cca 80 zdrojů (články publikované ve vědeckých žurnálech, učebnice, či webové stránky). Cíle byly definovány jasně a v průběhu diplomové práce byly naplněny.

připomínky:

1. Na některých místech chybí citace dokladující uváděné informace (např. str. 16 začátek 2. odstavce).
2. Na str. 27 uvádíte, že P-gp byl prokázán v PBMEC/C1-2 funkčně, ale ve výčtu chybí jakákoliv metoda prokazující funkci.
3. Obrázek 4.3 se v textu vyskytuje dvakrát (jednou barevně a jednou černobíle).
4. Chybějící statistika v obrázku 4.1, 4.3, v tabulce 4.7 (není tedy zřetelné, proč je ve výsledcích v "group studie" piroxikam řazen na první místo před diazepamem).
5. Legendy k výsledkovým grafům jsou neúplné, bez hledání ve výsledkovém textu jsou grafy hůře pochopitelné.
6. Přínosná by byla přehledná korelace transportu NSAID pře PBMEC/C1-2 s jejich log P.
7. str. 48, bez statistického porovnání nemůžete tvrdit, že PCell mezi piroxikamem a ibuprofenem ve studiích s probenecidem je rozdílná (tento problém se line celou prací)

otázky:

1. Mohla byste podrobněji ozřejmit význam group studies? Je přece vysoce nepravděpodobné, že dojde k současnému podání až pěti NSAIDs, takže pozorovaná změna prostupu v takových kombinačních studiích je zřejmě irelevantní. V tomto kontextu bych se ještě rád zeptal, zda jste analyzovali pH media při kombinačních studiích. pH media mohlo být změněno vysokou koncentrací NSAID, což mohlo ovlivnit disociaci užitých NSAID a tedy i jejich vstup přes PBMEC/C1-2?
2. PCell karboxyfluoresceinu je ve vašich experimentech značně variabilní, což (jak je uvedeno v diskusi) by mohlo být známkou různé integrity monovrstvy. Sledovali jste integritu monolayeru po ukončení experimentu? Standardně se používá FITC dextran nebo radioaktivně značený inulin, kde je povolený transport do 1 % za h.
3. Použitá koncentrace 100 μM je docela vysoká. Jaký byl důvod použití tak velkých (fyziologicky zřejmě nerelevantních) koncentrací? Nemohla mít takto vysoká koncentrace, a to zejména v group studiích, cytotoxický efekt?
4. Která z vašich testovaných testovaných látek je známým substrátem P-glykoproteinu či multidrug resistance-associated proteinů? Není vzhledem k saturabilitě použitá koncentrace 100 μM příliš vysoká. Práci doporučuji k obhajobě v rámci rigorózního řízení.