

Název rigorózní práce **Studium role nukleosidových transportérů v intestinální absorpci s využitím in vitro transportního modelu založeném na buněčné linii Caco-2**

Uchazeč **Mgr. Markéta Ďurišová**

Oponent **RNDr. Jakub Hofman, Ph.D.**

Posudek oponenta rigorózní práce

Posuzovaná rigorózní práce je zaměřena na ověření funkce nukleosidových transportérů v in vitro modelu střevní bariéry. Konkrétně se její autorka věnovala studiu přestupu adenosinu, thymidinu a abakaviru přes monovrstvu Caco-2 buněk a možným ovlivněním tohoto děje prostřednictvím inhibitoru ENTs NBMPR. Práce je logicky členěna, srozumitelně sepsána a má až na drobné výjimky vysokou úroveň jazykové úpravy. Experimenty by sice pro ověření správnosti interpretace výsledků zasloužily rozšíření, nicméně rozsah experimentální práce i v aktuální podobě plně odpovídá nárokům kladeným na rigorózní. Po obsahové, jazykové ani grafické stránce k práci nemám žádné zásadní výhrady, mám pouze několik připomínek a dotazů:

Připomínky:

- 1) Na straně 17 píšete, že "lidský ENT1 (hENT1) je složen ze 456 proteinů" a podobně na straně 18 uvádíte, že "lidský transportér ENT2 (hENT2) se skládá ze 456 proteinových zbytků". Zřejmě máte na mysli aminokyseliny, resp. aminokyselinová rezidua.
- 2) Na straně 18 se dále nachází nevhodná formulace "transepiteliální proudění".
- 3) V experimentální sekci 7.5 je polemizováno o metabolismu nukleosidů a jejich následném transmembránovém přenosu s tím, že je tento předpoklad v daném experimentu ověřován. Toto zjevně není možné, neboť je v pokusu používán radioaktivně značený abakavir. Metabolitová teorie a její údajné ověření nejsou diskutovány v sekci Diskuze.
- 4) V experimentech je sledován přestup purinových a pyrimidinových analog přes buněčnou monovrstvu pouze v A-B směru. Dle mého názoru by bylo nanejvýš vhodné současně analyzovat i transport v opačném směru pro ověření správné interpretace výsledků, a to s ohledem na ko-expresi více členů rodiny ENT transportérů a dalších membránových transportérů ve střevním epitelu. Tato ko-exprese může výrazně komplikovat interpretaci výsledného transportního profilu testovaných látek, navíc je nutno vzít v potaz i schopnost ENTs transportovat své substráty obousměrně a rozporuplné informace o apikální/bazolaterální lokalizaci jednotlivých ENT zástupců ve střevním epitelu, potažmo Caco-2 buňkách.

Dotazy:

- 1) Na straně 37 je zmíněno, že transport tritiem značeného thymidinu byl studován např. autorem Hu, 1993, kdy byl potvrzen uptake buňkami Caco-2, a tedy zapojení NTs v jeho absorpci. Opravdu je možné pouze ze skutečnosti, že buňka přijímá nějakou substanci, odhadnout zapojení NTs v tomto procesu? Snažil jsem si informaci ověřit, ale daná reference bohužel v seznamu chybí.
- 2) Na straně 14 uvádíte, že významným rozdílem mezi ENTs a CNTs je jejich citlivost vůči inhibitoru NBMPR. Dále píšete, že v případě CNTs mluvíme o inhibici velmi slabé a bez klinického významu. Znamená to snad, že NBMPR je schváleným nebo potenciálním léčivem? Bylo by možné inhibitory ENTs použít k nějakým farmakoterapeutickým zásahům?

Závěrem je možno konstatovat, že Mgr. Markéta Ďurišová prokázala jak velmi dobrou orientaci ve studované problematice, tak schopnost samostatné vědecké práce. Práce splňuje požadavky kladené na rigorózní práci, jednoznačně ji doporučuji k obhajobě a zároveň navrhuji, aby po jejím úspěšném absolvování byl Mgr. Ďurišové udělen akademický titul doktor ve zkratce PharmDr.