

**UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE**  
**FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ**

Katedra farmakologie a toxikologie

Studijní program: Farmacie

**Posudek oponenta diplomové práce**

Oponent/ka: **RNDr. Jakub Hofman, Ph.D.**

Rok obhajoby: 2014

Autor/ka práce: Ivana Havlová

Název práce:

**Studium vlivu subchronického podávání antiretrovirotika emtricitabinu na expresi efluxních lékových transportérů v orgánech matky a plodu**

---

Rozsah práce: počet stran: 41, počet grafů: 8, počet obrázků: 6,

počet tabulek: 2, počet citací: 49 , počet příloh: 0

Práce je: experimentální

- a) Cíl práce je: zcela splněn
- b) Jazyková a grafická úroveň: výborná
- c) Zpracování teoretické části: výborné
- d) Popis metod: výborný
- e) Prezentace výsledků: výborná
- f) Diskuse, závěry: velmi dobré
- g) Teoretický či praktický přínos práce: výborný

Případné poznámky k hodnocení: V předložené diplomové práci se autorka zabývá vlivem dlouhodobého podávání antiretrovirotika emtricitabinu na expresi ABC lékových transportérů v placentě a vybraných orgánech matky a plodu potkaních samic. Jedná se o velmi zajímavé a klinicky relevantní téma vzhledem k tomu, že výsledky práce přispívají k rozšíření znalosti o bezpečnostním profilu emtricitabinu. Práce je logicky členěna, má vysokou úroveň jazykové úpravy, vyskytuje se v ní pouze minimum překlepů. Oceňuji schopnost autorky úderně vystihnout důležitá fakta, která se opírají o literární poznatky, a použít je pro podtržení významu práce. Experimenty jsou velice dobře navrženy (výběr aplikační cesty podložený studií biodostupnosti, výběr testovaných orgánů a transportérů) a odpovídajícím způsobem reflektují podmínky dosahované u člověka (volba dávky). Výsledky a zároveň design experimentů jsou vhodně diskutovány. Po obsahové ani grafické stránce k práci nemám žádné zásadní výhrady, mám pouze několik připomínek a dotazů.

Dotazy a připomínky:

Formální připomínky:

- 1) V práci se objevují nejednotné zkratky pro studované ABC transportéry (př. P-gp a MDR1 pro P-glykoprotein). S ohledem na nejnovější doporučení bych použil zkratky ABC.. pro lidský protein, ABC.. v kurzívě pro lidský gen, Abc.. pro zvířecí protein a Abc.. v kurzívě pro zvířecí gen.
- 2) V práci se vyskytuje nejednotný výraz orholog/ortolog.

3) Formulaci „totální RNA“ pocházející z angličtiny bych nahradil výrazem celková RNA.

Faktické připomínky:

1) Indukce/utlumení exprese proteinu nemusí vždy nastat pouze změnou transkripce mRNA, ale také jinými mechanizmy, jako kupř. zvýšením/snížením stability mRNA. Pro vyloučení možnosti, že došlo k indukci transportérů alternativními pochody, bych doporučil experimenty na úrovni RNA doplnit o stanovení exprese proteinu např. pomocí metody Western blotting.

2) Pomocí relativní kvantifikace u qPCR sice můžeme sledovat změny v expresi cílového genu, nicméně tato metoda nám neumožňuje odhadnout jeho celkovou úroveň exprese v daném orgánu. To je přitom poměrně zásadní skutečnost, která rozhoduje o významnosti zjištěné interakce in vivo v daném orgánu. Z tohoto důvodu bych v případě qPCR experimentů dal přednost metodě absolutní kvantifikace.

Otázky:

1) Jakým způsobem byla ověřena stabilita vybraných referenčních genů b2m a rYwhaz pro vybrané orgány?

2) V některých grafech dosahují směrodatné odchylky odhadem až 100% naměřených hodnot. Jak si vysvětlujete tuto variabilitu?

**Celkové hodnocení: výborně, k obhajobě: doporučuji**

V Hradci Králové dne 20. 5. 2014

.....  
podpis oponentky / oponenta