

OPONENTSKÝ POSUDEK NA DIZERTAČNÍ PRÁCI

Autor práce: Mgr. Matej Vicen

Název práce: Membránový endoglin a jeho úloha v patogenéze endotelové dysfunkcie v podmienkach *in vitro*

Školiteľ: Prof. PharmDr. Petr Nachtigal, Ph.D.

Pracovište: Univerzita Karlova, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové, Katedra biologických a lékařských věd

Dizertační práce Mgr. Mateje Vicena je napsána ve formě komentovaného souboru tří velmi kvalitních publikací v časopisech Q1/2 s impakt faktory 3,2; 4,2 a 5,4. Je třeba také zdůraznit, že řada objevů v těchto pracích jsou nové a přínosné nálezy posouvající znalosti v této komplikované vědecké oblasti endoglinu a jeho dvoustranného vlivu na vaskulární systém. Zdůraznil bych zde, zejména, tyto podle mého názoru, klíčové nálezy:

- Odlišný vliv aktivace lidských monocytů GM-CSF a M-CSF na angiogenesi včetně zapojení metaloproteinas a endoglinu v této kaskádě
- Účinky 7-ketocholesterolu *in vitro* na primární modelovou buněčnou kulturu (HAEC, lidské endotelové buňky z aorty) vedoucí k aktivaci signálních kaskád 3 transkripčních faktorů, endotelových adhezních molekul a zvýšení membránového endoglinu
- Solubilní endoglin není sám schopen vyvolat endotelovou dysfunkci v buňkách HUVEC (lidské endotelové buňky z pupečnickové žíly), i když je schopen aktivovat některé prozánětlivé kaskády

V teoretickém úvodu k dizertační práci je dobře vysvětlen současný stav problematiky. Z daného přehledu zahrnujícího informace o adhezních molekulách, oxysterolech, endoglinu a jeho kaskádě i současných buněčných kulturách ve vztahu k tématu (zejména endotelových) je dobře zřetelné, že Mgr. Vicen nastudoval podrobně danou problematiku (mj. používá celkem 194 referencí). Jediné, co mi v této části chybí a co jsem nenalezl v odpovídající publikaci (Vicen et al., FASEB Journal 2019) jsou informace týkající se množství oxysterolů v potravě (na str. 28 je uvedeno, že jsou vstřebávány do systémového řečiště) a obecně koncentrace oxysterolů, které byly změřeny v plasmě u lidí.

Drobné formální nedostatky:

- Názvy chemických látek jsou v některých částech používány v angličtině, nebo případně angličtině-slovenštině, např. str. 10 „...]indazole-3-carboxamid“, a str. 22 (dihydrochloride).
- „cholesterol 5,6 epoxid“ se správně píše „cholesterol-5,6-epoxid“
- Již z minulých dizertačních prací skupiny (Dizertační práce Mgr. Vitverové) se opakující chyba „Endotelové bunky produkujú aj vazokonstrikčné látky ako endotelín, tromboxán A₂ a angiotenzín II“ (s.15) – Thromboxan A₂ je produkovaný krevními destičkami.
- Obr. 7 na str. 30 by bylo vhodné přelepit správným obrázkem
- Odstavce na str. 18 a 34 jsou velmi analogické a bylo by vhodnější je spojit v jedné části (např. str. 18 – „Následné plazenie buniek po povrchu endotelových buniek je zabezpečené prostredníctvom interakcie s medzibunkovou adhéznou molekulou 1 a 2 (ICAM-1 a ICAM-2).“ a str. 34 „Následné intraluminálne plazenie monocytov je zabezpečené prostredníctvom interakcie monocytového s fúziou spojeného antigénu 1 (LFA-1) a makrofágového antigénu 1 (Mac-1) s ICAM-1 a ICAM-2“).

- Obr. 10 by si zasloužil lepší popis, vzhledem k tomu, že jde o vlastní výsledky. Vyjádření „stimulačných citokínov“ by mělo být dovysvětleno.
- V seznamu citací jsou mírné nedostatky: Citace č. 29, 38, 52, 79, 102, 155 a 177 jsou neúplné (většinou chybí stránkový rozsah nebo číslo článku). Citace č. 34, 49 a 183 mají odlišný formát než ostatní citace.

Otázky:

- Jaké nejvyšší koncentrace oxysterolů byly změřeny v plasmě u lidí a jak byla zvolena koncentrace 7-ketocholesterolu pro studii Vicet et al., FASEB Journal 2019
- Proč byly pro studii se solubilním endoglinem vybrány HUVEC buňky a pro studii s 7-ketocholesterolem zvoleny HAEC buňky?
- Co znamená „periférna cievna choroba“ (s.16) – nejde o ischemickou chorobu dolních končetin ?
- „nNOS...reguluje uvoľňovanie katecholamínov v srdci“ (s.16), prosím o vysvětlení.
- „Oxysteroly sú deriváty cholesterolu, ktoré vznikajú jeho oxidáciou. Majú 2-rádovo vyššiu reaktivitu ako samotný cholesterol a na rozdiel od cholesterolu sú vďaka prídavnému kyslíku schopné prestupovať lipofilné membrány“ (s.27) – Opravdu může přídavný kyslík zvýšit přestup lipofilními membránami ?

Je vhodné také uvést, že Mgr. Vicen je spoluautorem i dalších 2 publikací s IF, které nejsou zahrnuty v této komentované dizertaci.

Závěrem mohu shrnout, že Mgr. Vicen splnil podmínky kladené na dizertační práci. Jeho výsledky jsou rozhodně užitečné pro další výzkum v této oblasti. Jeho podíl na publikacích je jasně specifikován a jeho vědeckou aktivitu považuji za nadprůměrnou. Jeho dizertační práci tedy doporučuji jednoznačně k obhajobě jako podklad k získání titulu Ph.D.

V Hradci Králové 31. srpna 2020

.....

doc. PharmDr. Přemysl Mladěnka, Ph.D.
Katedra farmakologie a toxikologie
Farmaceutická fakulta v Hradci Králové
Univerzita Karlova