

OPONENTSKÝ POSUDEK

dizertační práce Mgr. Aleny Moravcové „Studium mechanismů hepatotoxických a hepatoprotektivních účinků na modelově poškozených hepatocytech“.

Předkládaná dizertační práce „Studium mechanismů hepatotoxických a hepatoprotektivních účinků na modelově poškozených hepatocytech“ Mgr. Aleny Moravcové je výsledkem jejího postgraduálního studia ve studijním programu Fyziologie a patologická fyziologie. Školitelkou byla doc. MUDr. Halka Lotková, PhD. Dizertační práce byla vypracována na pracovišti Ústavu fyziologie LF v Hradci Králové, Univerzita Karlova.

Dizertace má 120 stran a následuje seznam literatury (15 stran). Vlastní dizertace má standardní členění a začíná Souhrnem nejdůležitějších výsledků v českém jazyce a anglickém jazyce. Následuje Teoretická část (29 stran), Cíle práce (2 strany), Metodika (19 stran), Výsledky (44 stran). Diskuse a závěry jsou v jedné kapitole (15 stran). Těmto kapitolám předchází ještě Obsah práce a dlouhý, ale nutný Seznam zkratk.

Práce je poměrně rozsáhlá. Úvodní část přináší přehledné informace o histologii, morfologii, biochemii a funkci jater a na buněčné úrovni zejména hepatocytů, Následují kapitoly týkající se různého typu poškození jater. Autorka dále shrnuje poznatky o hepatotoxických látkách, některé z nich se používají jako modelové látky pro experimentální účely studia jaterních chorob. Nechybí ani kapitola o hepatoprotektivních látkách, z které vidíme, že farmakoterapie je desítky let stále omezená. Na závěr literárního přehledu jsou rozebrány výhody a nevýhody zejména *in vitro* modelů používaných v experimentální hepatologii. Z literárního přehledu je vidět, že doktorandka má velmi dobré teoretické znalosti. Možná by bylo vhodnější ještě více cílit jednotlivé subkapitoly k názvu práce a věnovat se ještě podrobněji modelům a mechanismu (molekulárního) účinku hepatotoxických a protektivních látek (např. látky obsažené v *Silibum marianum*, *Camelia sinensis*), a vlivu tukové diety.

Cíle práce jsou jasně a přehledně definované. Metodické cíle se týkají nastavení optimálních kultivačních podmínek v primární kultuře hepatocytů potkana (monolayer vs sendvič) a zavedení modelu steatózy indukci mastnými kyselinami (olejová a palmitová). „Výsledkové“ cíle se týkají hodnocení zavedeného modelu steatózy a dále hodnocení účinnosti potencionálně protektivní látky (epigalokatechin galát, EGCG) v modelu steatózy a v modelu D-galaktosaminem poškozených hepatocytů v primární kultuře.

Konkrétní cíle práce jsou dále rozpracovány na jednotlivé úkoly a je vidět, že doktorandka měla práci předem rozmyšlenou a mohla tak systematicky řešit dílčí úkoly.

Pro dosažení cílů byla použita řada adekvátních metod používaných při studiu hepatocytů: samotná izolace hepatocytů, řada biochemických metod, mikroskopie, molekulárně - biologické přístupy. V práci byla použita široká škála metod, které jsou detailně popsány a které si autorka osvojila a použila k interpretaci vlastních výsledků. Práce s hepatocyty je i časově náročná a sladit analytické přístupy, aby vedly k dosažení a správné interpretaci výsledků není vždy úplně jednoduché. Výsledky ukazují, že doktorandka toto vše zvládla.

Výsledky práce jsou prezentovány podle dílčích cílů a současně adekvátně komentovány. Je zřejmé, že bylo vyprodukováno velké množství dat a po statistickém a mikroskopickém zpracování bylo dosaženo velké řady pozoruhodných výsledků. Doktorandka zavedla nový model steatózy a na tomto modelu ukázala řadu zajímavých výsledků, ale i otevřela cestu pro další studium. Zároveň autorka potvrdila i výsledky jiných autorů o škodlivosti nasycené kys. palmitové na jiných jaterních modelech. Všechny podstatné výsledky, tj. zavedení modelu steatózy pomocí kyseliny olejové a palmitové a jeho ověření pro studium hepatotoxicity, protektivní vliv EGCG v monolayeru hepatocytů v přítomnosti D-galaktosaminu a protektivní vliv EGCG na rozvoj steatózy a lipotoxicity, jsou diskutovány v kapitole Diskuse. Protože autorka dosáhla velké množství dat, považuji za velmi přínosné shrnutí diskuse do jednotlivých závěrů k původním cílům.

Celá práce je bohatě citována (celkem 310 citací), což svědčí nejen o celkovém rozhledu doktorandky, ale rovněž o složitosti studia chorob jater a následné (nebo protektivní) farmakologické léčbě.

Experimentální práce je doložena šesti publikacemi k dané problematice výzkumu jater. Mgr. Moravcová zcela splnila publikační aktivitu včetně 2 prvoautorských publikací. Je proto možno jasně konstatovat, že cíle práce byly zcela splněny. Mé poznámky a otázky nijak nesnižují originalitu a význam dosažených výsledků. Následné dotazy či připomínky jsou zaměřeny na upřesnění údajů týkajících se teoretického úvodu, experimentálních metod a interpretace výsledků.

Původ D- galn a EGCG – v metodice chybí přehled o chemikáliích.

K práci mám tyto připomínky a dotazy:

A) Formální:

- minimální překlepy, např. str. 30 (geneticky), str. 36 (snižují)
- nejednotné značení (pomlčka): TNF- α vs TNF α , obdobně TGF β , CYP450
- slovo lék je laické vyjádření (správně léčivo)

B) Dotazy:

- kapitola Metodika: chybí informace o původu EGCG, prosím upřesnit.
- Nelíbí se mi slovo přídavek, šlo by to nahradit jinou formulací?
- str. 97, graf č. 21: V přítomnosti EGCG dochází u kontrolních hepatocytů ke zvýšení WST-1 nad 100 %. V textu je uvedeno, že jde o vyšší aktivitu enzymů. Nedochozí třeba k proliferaci buněk? Nezabýval se tím někdo?

- Je něco známo o účinku EGCG na poškození jater vyvolané tetrachlormetanem (CCl₄)?

Závěr: na základě výše uvedených skutečností konstatuji, že předložená práce „**Studium mechanismů hepatotoxických a hepatoprotektivních účinků na modelově poškozených hepatocytech**“ Mgr. Aleny splňuje požadavky kladené na doktorskou dizertační práci v daném oboru a dokumentuje schopnost autora samostatně vědecky pracovat na odpovídající úrovni. Doporučuji proto uvedenou dizertační práci k obhajobě, na jejímž základě může být udělen akademický titul doktor (Ph.D.) podle § 47 Zákona o vysokých školách č. 111/98 Sb.

V Praze, 3.ledna 2022

Doc. RNDr. Eva Kmoníčková, CSc.