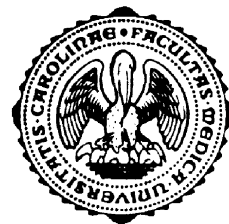




MUDr. Karel Dvořák, Ph.D.
IV.interní klinika 1. LF UK Praha
Přednosta prof.MUDr.Radan Brůha, CSc



V Praze, dne 2. 10. 2023

Oponentský posudek

Disertační práce: „**Metabolické účinky žlučových lipidů**“.

Autorky **Ing. Kateřiny Žížalové**, 1.LF UK Praha.

Předložená práce je vyhotovena na 100 stránkách, obsahuje 9 obrázků. Je členěna na úvodní část (20 stran), dále jsou cíle práce a pak je přiloženo 5 publikací in extenso s následnou diskuzí a seznamem použité literatury. Kvalita formálního zpracování je vysoká.

V teoretickém úvodu je popsána historie poznání, struktura žlučových kyselin a jejich fyzikálně chemické vlastnosti, které souvisí s jejich strukturou a mají význam také pro jejich analýzu i funkci. Stejně tak jsou popsány mechanismy biosyntézy žlučových kyselin – zejména klasická a alternativní dráha. Podrobně je popsána biotransformace žlučových kyselin, ke které dochází jak endogenně v játrech, tak činností střevních bakterií. Zdůrazněny jsou funkční a fyziologické aspekty jednotlivých biotransformačních drah a také popis enterohepatálního oběhu žlučových kyselin.

Dále se autorka věnuje metodám stanovení žlučových kyselin od minulosti do současnosti. Jsou popsány metody chromatografické, enzymatické, imunochemické a spektroskopické. U jednotlivých metod jsou rozebrány jejich výhody a nevýhody jejich použití ke stanovení žlučových kyselin při použití v rámci výzkumu i v běžné praxi.

Teoretický přehled představuje kvalitní souhrn současných znalostí a je založen na vynikajících literárních znalostech i praktických dovednostech autorky. Jsou zde detailně popsány současné znalosti, které jsou východiskem disertační práce. Je tak zdůrazněna aktuálnost zvoleného tématu. Citovaná literatura je aktuální a vhodně vybraná.

Cílem vlastní práce bylo ověřit spolehlivost enzymatického stanovení jednotlivých žlučových kyselin. Jako referenční metoda byla zvolena kapalinová chromatografie s tandemovým hmotnostním detektorem (LC-MS/MS), kterou autorka práce na svém pracovišti zavedla a byla využívána i v dalších souvisejících výzkumných projektech, jejichž výsledky byly publikovány a jsou také součástí předložené disertační práce. Týkají se vlivu přetížení železem na metabolismus žlučových kyselin u potkana, nebo ovlivnění toxického působení žlučových kyselin bakterií *Egarthella lenta* a jeho mechanismu. Dále se autorka zabývala hodnocením různých metod izolace markeru biosyntézy žlučových kyselin (7-alpha-hydroxy-4-cholesten-3-on; C4) a jejich časové náročnosti. Posledním cílem bylo ověření hypotézy týkající se možnosti užití žlučových kyselin jako diagnostického markeru – zda by koncentrace žlučových kyselin mohla korelovat s portální hypertenzí u pacientů s jaterní cirhózou.

Metodika jednotlivých postupů je podrobně popsána v jednotlivých příložených publikacích, autorka některé metody na svém pracovišti zavedla (LC-MS/MS, použití dalších exaktně zhodnotila (metody izolace C4). Použití jednotlivých metod je adekvátní a odpovídá současným moderním poznatkům.

Mezi nejdůležitější **výsledky** lze zařadit přímé zhodnocení účinnosti enzymatického stanovení jednotlivých žlučových kyselin, porovnání různých metod extrakce C4 ze séra, zavedení metodiky stanovení jednotlivých žlučových kyselin pomocí LC-MS/MS na pracovišti autorky a užití těchto metod v experimentální práci.

Další výsledky se týkají konkrétního užití těchto metod v rámci konkrétních in vivo a in vitro experimentů. Jedná se o pravděpodobné snížení biosyntézy žlučových kyselin a zároveň zvýšení celkového cholesterolu v plasmě u potkanů při nadměrném podávání železa, mechanismy bakteriální transformace deoxycholové kyseliny bakterií *E. lenta* na ketoderiváty a možnostmi využití stanovení sérových koncentrací žlučových kyselin jako diagnostických markerů. Bylo prokázáno, že koncentrace taurocholové kyseliny mohou predikovat klinicky signifikantní portální hypertenzi u pacientů s jaterní cirhózou.

V **diskuzi** autorka podrobně komentuje dosažené výsledky z pohledu současných znalostí i z pohledu jejich možného praktického využití v budoucnu.

Největší přínos práce vidím v zavedení a zhodnocení analytických metod umožňujících dokonalejší stanovování žlučových kyselin v různých oblastech výzkumu – analytice, in vitro a in vivo experimentech i klinické praxi.

Závěrem lze říci, že práce plně odpovídá požadavkům na PhD práci. Řeší aktuální problematiku odpovídajícími moderními metodami, splnila cíle, které si autorka stanovila. Výsledky přinesly nové informace především do problematiky analýzy žlučových kyselin a byly publikovány v časopisech s IF. Za pozoruhodnou považuji především komplexnost předložené práce, která zahrnuje hodnocení analytických metod i jejich použití v experimentu i klinické praxi a poskytuje tak informace, které dosud nebyly známy.

Disertační práce prokazuje předpoklady autora k samostatné tvořivé vědecké práci a k udělení titulu Ph.D.

MUDr. Karel Dvořák, Ph.D.

Praha, 2. 10. 2023

*IV.interní klinika I.LF UK
U Nemocnice 2
128 08 Praha2
Tel.: 224 962 506, Fax: 224 923 524
Mail: karel.dvorak@nemlib.cz*