



OPONENTSKÝ POSUDEK

disertační práce Mgr. Zuzany Vackové „Význam transportních proteinů a biotransformačních enzymů pro ochrannou funkci placenty“

Charakterizace disertační práce

Námětem předložené disertační práce bylo experimentální studium úlohy vybraných membránových efluxních transportérů a biotransformačních enzymů při detoxikační činnosti placenty. Při řešení problematiky bylo použito především experimentálních modelů na buněčné a na orgánové úrovni. Pro studium ochranné funkce placenty bylo v práci použito širokého komplexu farmakokinetických a molekulárně-biologických metod.

Disertační práce v rozsahu 73 stran je tvořena úvodem a souborem textů tří prací, které byly publikovány v odborných vědeckých časopisech. Všechny experimentálně zaměřené práce byly uveřejněny v impaktovaných časopisech. V případě jedné z uvedených publikací je předkladatelka hlavní autorkou, u ostatních spoluautorkou.

Souboru publikovaných prací je předřazena úvodní kapitola, která shrnuje v současnosti známé údaje o efluxních transportérech v placentární bariéře a o jejich významu pro detoxikační funkci placentární bariéry. V další části autorka charakterizuje placentární biotransformační systémy, které se mohou podílet na detoxikaci xenobiotik včetně léčiv. Dále je v úvodní teoretické části uveden přehled možných metod využitelných při studiu funkce placentární bariéry – od metod *in vivo* až k metodám *in vitro*. Zvláště je pozornost věnována možnostem využití perfúzních experimentů na orgánové úrovni při studiu placentárního transportu léčiv.

V další části úvodu je vymezen cíl disertační práce a podíl předkladatelky na provedených experimentálních pracích a jednotlivých publikacích. V závěru předložené disertační práce je také připojen souhrn získaných poznatků v českém a anglickém jazyce.

Zhodnocení disertační práce

Téma disertační práce plně odpovídá oboru a lze je pokládat za velmi relevantní, neboť poznání procesů, které mohou významně ovlivnit účinek léčiv na plod, má nejen poznávací, ale může mít v budoucnosti i praktický klinický význam.

Práce splňuje po formální stránce předepsané požadavky a obsahuje jak formulaci studované problematiky, přehled současného stavu poznání v dané oblasti, popis zvolených metod řešení, výsledky, kterých bylo dosaženo, seznam použité literatury, přehled publikovaných prací a k práci je připojen i souhrn v anglickém a českém jazyce.

Úvodní teoretická část práce stručně a přehledně shrnuje současné poznatky v dané oblasti. K vypracování tohoto teoretického úvodu bylo použito více než 70 publikací, z nichž většina je z posledních 5 let. Literární přehled je psán fundovaně a srozumitelně, bez závažných obsahových nebo formálních nedostatků.

Cíle práce jsou definovány v předloženém sdělení velmi přesně a srozumitelně a dosažené výsledky tyto vytyčené cíle odpovídajícím způsobem naplňují.

Podíl autorky na vypracování jednotlivých publikací a na experimentální práci, jejíž výsledky jsou v dizertační práci prezentovány, je v práci přesně uveden. Podíl uchazečky na experimentální práci byl široký a významný pro získání deklarovaných poznatků. Experimentální metody, které jsou uvedeny v jednotlivých publikacích, zahrnují řadu farmakologických a molekulárně-biologických postupů. Předkladatelka disertační práce zvládla úspěšně náročné experimentální práce s duálně perfundovanou placentou potkana a byla schopna provádět samostatně pokročilé molekulárně-biologické metody. Podílela se i na experimentech *in vivo* a zavedla infúzní metodu pro studium přestupu kortikosteroidů přes placentární bariéru u potkanů *in vivo*. Úspěšné zvládnutí a rutinní použití uvedených metod svědčí o schopnosti uchazečky pracovat v experimentální laboratoři velmi precizně a odpovědně.

Předkladatelka prokázala schopnost cílevědomé vědecké práce, včetně prezentace získaných výsledků. Uchazečka je hlavní autorkou jedné publikace s poměrně vysokým IF a u dvou dalších prací byla spoluautorkou. Navíc se doktorantka podílela na další impaktované práci publikované v odborném tisku, která není zahrnuta do předložené disertační práce. Vedle těchto čtyř původních prací je uchazečka autorkou několika abstraktů ze zahraničních a domácích konferencí, na kterých prezentovala výsledky své práce ve formě přednášek a posterů.

Výsledky, na kterých se předkladatelka významně měrou podílela, přinášejí originální poznatky o funkci placenty a významu sledovaných transportních a biotransformačních systémů pro její detoxikační funkci. Autorka se podílela na rozšíření poznatků o funkci membránového transportéru BCRP. Tento transportér byl objeven relativně nedávno, je exprimován i v lidské placentě a o jeho funkci v organismu jsou zatím poznatky pouze limitované. Velmi přínosné jsou získané údaje o vzájemných souvislostech při regulaci biotransformace kortikosteroidů v placentě a o úloze 11 β -hydroxysteroiddehydrogenáz při udržování hladin glukokortikoidů na straně plodu. Především se zdá zajímavým nález inhibice tohoto systému syntetickými steroidy a otevření otázky rozporu mezi vlivy těchto steroidů na studované biotransformační systémy na transkripční a posttranslační úrovni.

Připomínky a dotazy oponenta:

Všechny publikace, které jsou součástí této disertační práce, prošly recenzním řízením ve kvalitních odborných časopisech. Zásadní připomínky, které by zpochybňovaly cíle, metody a

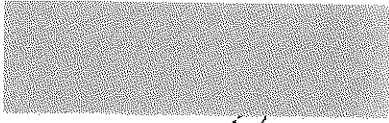
výsledky práce oponent nemá. Až na výjimečné textové chyby, které nijak neovlivňují srozumitelnost textu, je disertační práce po formální stránce na velmi vysoké úrovni. Následující připomínky a dotazy oponenta jsou proto zaměřeny téměř výhradně jen na upřesnění některých údajů uvedených v teoretickém úvodu a v jednotlivých publikacích:

1. Termín „hemato-mozková“ bariéra (str. 9) je sice věcně správný, avšak poněkud nezvyklý. Běžně se i v českých odborných textech používá pojem hemato-encefalická bariéra.
2. Přestože na str. 24 a 25 je uvedeno, které experimenty prováděla autorka sama a které spolupracovníci, není zřejmé vymezení pracovníka, který prováděl akumulární *in vitro* studii s HRP-1 buňkami, která je součástí publikace uvedené v oddílu II. Nebo tyto experimenty prováděla sama autorka?
3. Byly po provedení perfúze placenty potkana identifikovány nějaké změny struktury placentární tkáně (např. v důsledku hypoxie)?
4. Lze vysvětlit váš nález nepřítomnosti P-gp v linii HRP 1 buněk, které jsou odvozeny z placenty potkana? V potkaní placentě byl tento transportér prokázán.
5. Vzhledem k v práci uvedeným údajům o široké substrátové afinitě efluxních transportérů, je stále ještě platný údaj, že na straně plodu se mohou kumulovat spíše látky bazické povahy než xenobiotika kyselého charakteru? Nebo je spíše rozhodující afinita tohoto ochranného systému v placentě pro dané léčivo?
6. Existují informace o podobném placentárním regulačním mechanismu jako jsou pro glukokortikoidy 11 β -HSD1 a 11 β -HSD2 i pro sexuální hormony?

Závěr:

Na základě výše uvedených skutečností konstatuji, že práce mgr. Zuzany Vackové „Význam transportních proteinů a biotransformačních enzymů pro ochrannou funkci placenty“ zcela splňuje požadavky kladené na doktorskou disertační práci a jasně dokumentuje schopnost autorky vědecky pracovat na odpovídající úrovni. Odborná kvalita předložené práce je velmi vysoká. Doporučuji proto uvedenou disertační práci k obhajobě, na jejímž základě by byl udělen uchazečce příslušný vědecký titul.

V Hradci Králové dne 12.8. 2009



Doc. PharmDr. F. Trejtnar, CSc.