



Posudek disertační práce

Název práce: *The role of toll-like receptors in the pathogenesis of liver diseases*

Autor práce: MUDr. Jan Petrášek

Disertační práce MUDr. Jana Petráška je předložena ve formě komentovaného souboru 4 prací, u tří z těchto prací je MUDr. Petrášek prvním autorem. Jedna z prací je dosud v recenzním řízení, zbylé 3 práce jsou publikovány ve vysoce renomovaných mezinárodních časopisech (*Gastroenterology*, IF = 12,89; *Hepatology*, IF = 11,56). Téma disertační práce je vysoce aktuální a je zaměřeno na studium úlohy aktivace mechanismů vrozené imunity v patogenezi závažných jaterních onemocnění. Autor se soustředil na úlohu Toll-like receptorů u jaterních onemocnění provázených zvýšeným přísunem bakterií a především lipopolysacharidu gramnegativních bakterií z trávicího traktu.

Cíle práce jsou jasně definovány a jsou rozděleny do 4 samostatných celků. První část práce je zaměřena na zjištění, zda jsou běžné alelické varianty genů účastnících se na TLR4-zprostředkovaném poškození jater při alkoholové cirhóze odpovědné za genetickou vnímavost ve středoevropské populaci. Druhá část byla cílena na studium úlohy interferon regulujícího faktoru 3 (IRF3) v patogenezi alkoholového poškození jater. Tato náročná experimentální práce byla provedena na konvenčních myších a dvou kmenech knockoutovaných myší - IRF3 deficientní a IFNARI (interferon typu I alfa/beta receptor 1) deficientní zvířata. Cílem třetí části práce bylo posoudit, zda probiotická dieta ovlivní rozvoj zánětlivé odpovědi a fibrózy u myší s nealkoholickou steatohepatitidou navozenou cholin-methionin deficientní dietou. Poslední část disertační práce opět provedená na knockoutovaných myších byla cílena na studium protektivního účinku interferonů typu I na modelu jaterního poškození závislého na TLR9.

V literárním přehledu (50 stran) autor shrnuje dosavadní poznatky o Toll-like receptorech a jejich úloze v přirozené imunitní odpovědi. Druhá část přehledu je věnována popisu exprese Toll-like receptorů v játrech a jejich podílu v patogenezi vybraných jaterních onemocnění. Literární přehled je srozumitelný, po formální i odborné stránce je dobře zpracován a je dokumentován nadstandardním počtem (318) literárních odkazů.

K řešení vytčených cílů byla použita celá řada náročných moderních metod zahrnujících metody molekulární biologie, průtokovou cytometrii, imunohistochemii, řadu biochemických metod a také izolaci a následnou kultivaci hepatocytů.

Autor ve své disertační práci přináší řadu významných prioritních výsledků, které již publikoval ve vysoce renomovaných odborných časopisech, a které prošly velmi přísným oponentním řízením. K výběru metod ani k interpretaci výsledků nemám žádné připomínky.

K autorovi mám následující dotazy a připomínky:



1. Jak jsem uvedla výše, k řešení cílů byla použita celá řada náročných experimentálních metod, jejichž zvládnutí v dobré kvalitě přesahuje možnosti jednoho pracovníka. Vzhledem k tomu, že jsem v práci nenašla údaj o podílu dalších pracovníků na získaných výsledcích, dovoluji si autora disertační práce požádat, aby vymezil svůj podíl na uvedených experimentech.
2. Formální připomínku mám k literárnímu přehledu. Vzhledem k zaměření práce je akcentována úloha aktivace mechanismů vrozené imunity v patogenezi jaterních onemocnění a jen velmi malá pozornost je věnována dalším možným patogenetickým mechanismům. Poškození hepatocytů např. alkoholem nebo hepatotoxickými látkami lze poměrně snadno indukovat i v podmínkách *in vitro*, kdy nedochází k iniciaci imunitních reakcí patogeny ze střeva.
3. Připomínku mám k pokusům *in vitro*, které jsou součástí druhé práce „*Hepatocyte-specific IRF3 and Type I interferons are protective in alcohol-induced liver injury in mice via cross-talk with macrophages*“. Součástí této práce jsou i výsledky získané na izolovaných hepatocytech. V práci chybí řada důležitých údajů, např. jaká byla viabilita hepatocytů po izolaci, jak dlouho byly hepatocyty kultivovány a zda došlo k jejich poškození v průběhu kultivace, chybí i údaj, za jak dlouho po aplikaci LPS byly sledovány koncentrace vybraných cytokinů. Doporučuji rovněž, aby pokusy prováděné *in vitro* byly vždy dokumentovány mikrofotografiemi buněčných kultur.

Závěr:

Práce řeší závažné téma, které má nejen teoretickou, ale i praktickou důležitost. Zaměření práce, výběr metod i interpretace výsledků jsou na vysoké odborné úrovni. Práce přináší řadu prioritních výsledků, všechny byly publikovány a prošly přísným oponentním řízením ve vysoce renomovaných mezinárodních odborných časopisech.

Závěrem konstatuji, že MUDr. Jan Petrášek jednoznačně prokázal, že si osvojil schopnost samostatné vědecké práce a jeho spis splňuje požadavky kladené na disertační práci, a proto komisi d o p o r u č u j i, aby práce byla předložena k obhajobě a na základě úspěšné obhajoby byl uchazeči udělen titul Ph.D.

V Hradci Králové dne 21. listopadu 2010

Prof. MUDr. Zuzana Červinková, CSc.  
Ústav fyziologie LFUK  
Šimkova 870  
500 38 Hradec Králové