

Disertační práce mgr. Lucie Stejskalové se zabývá problematikou biotransformačních enzymů v placentě, přičemž se soustředí na cytochrom P450 1A1 a regulaci jeho exprese prostřednictvím aryluhlovodíkového receptoru (AhR).

Úlohou CYP1A1, který je exprimován především v extrahepatálních tkáních, je biotransformace xenobiotik na metabolity, které jsou hydrofilnější, nebo se takovými stanou po konjugaci, a jsou pak snadněji vyloučeny z organismu. Nelze však opomenout možnost metabolismu endogenních látek prostřednictvím CYP1A1. Protože tento CYP je jediný, který vykazuje signifikantní expresi a inducibilitu v placentě, může hrát důležitou roli v prenatální a perinatální farmakoterapii. Proto považují tuto práci za aktuální svým zaměřením.

Svým uspořádáním působí disertační práce mgr. Stejskalové jako komentovaný soubor prací a na několika místech text disertace tento dojem potvrzuje. Velmi pěkná je úvodní část, která vychází ze dvou příložených review, a na základě publikovaných informací staví určité hypotézy. Bohužel následuje paradoxy oplývající Experimentální část.

Hned na začátku kapitoly 5 autorka deklaruje, že uvádí pouze stručný popis metod a pro detailní informace odkazuje čtenáře na příložené publikace. Jenže v zápětí přistupuje k celkem detailnímu popisu použitých linií, nedává však žádné informace o lidských hepatocytech, které jsou jedinou buněčnou kulturou použitou v publikaci č.4 (Vrzal et al., 2009). Na straně 52 v úvodním odstavci kapitoly 5.3 autorka ujišťuje, že „[použité molekulárně biologické metody] jsou metody známé a běžně používané v laboratořích, takže není třeba je detailněji popisovat.“ Přesto stráví dalších 6 stran jakýmsi zvláštním rychlokursem pro čtenáře, aby snad nepochyboval o tom, co je real-time PCR, western blot, EROD esej, imunohistochemie a metoda genové reportérové studie. Přitom posledně jmenovaná metoda by si detaily zasloužila, protože v příložených publikacích o ní není ani zmínka.

Ve stejně rozpačitém duchu pokračuje kapitola 7. Prolog ve formě čtyř odstavců shrnuje následující text a působí dojmem nutného ujištění čtenáře, že mgr. Stejskalová je první, druhou či další spoluautorkou příložených a jiných publikací, kdyby náhodou nedolistoval až na stranu 175 disertace. Následují obě avizované podkapitoly, přičemž první z nich je mírně rozšířenou verzí příložené publikace č. 1. Nejzajímavější částí z celé disertace je kapitola 7.2 právě z pohledu využití pro perinatální farmakoterapii glukokortikoidy.

K práci mám následující dotazy:

1. Jak si autorka vysvětluje vliv dexamethasonu, který potencuje účinek TCDD na úrovni CYP1A1 mRNA, ale potlačuje EROD aktivitu?
2. Na straně 68 popisuje autorka, že v trofoblastech je indukce vyvolaná TCDD slabší než ta vyvolaná 3-methylcholanthrenem (v obou případech uvádí 5 nM koncentraci). Mohla by autorka rozvést svoji hypotézu o tkáňové specifitě účinku AhR ligandů? Případně uvést, zda existují varianty AhR?
3. Z protokolu pro experiment ovlivnění exprese CYP1A1 dexamethasonem na straně 87 není jasné, proč je doba odmytí 12 hodin. Vyplývá to z literatury, vlastních experimentů nebo známého metabolismu dexamethasonu?
4. Na straně 88 autorka navrhuje, že samotný dexamethason neovlivňuje expresi/indukci AhR, jeho kofaktorů a dalších transkripčních faktorů. Ale z experimentů na primárních trofoblastech to není úplně zřejmé. Jak lze potenciaci vysvětlit?

Kromě výše uvedených výtek k formě disertace konstatuji, že se v disertaci vyskytují různé anglikanismy, např. sodium pyruvát, překlady, např. endogenních látek, a nejasnosti o původu chemikálií. Co se týká původu použitých plasmidů, tyto jsou dílem autorky, byly pořízeny komerčně nebo jsou darem od jiných vědců? Pokud jsou darem, sluší se uvést tvůrce a popřípadě příslušnou referenci.

Závěr

Po celkovém zhodnocení předložené disertační práce mgr. Lucie Stejskalové doporučuji přijetí této práce k obhajobě a dalšímu řízení. Rovněž doporučuji, aby byl mgr. Lucii Stejskalové po úspěšné obhajobě přiznán vědecký titul Ph.D.

V Olomouci 27.1.2012

Martin Modrianský, PhD
Ústav lékařské chemie a biochemie
Lékařská fakulta Univerzity Palackého