

OPONENTSKÝ POSUDEK NA DISERTAČNÍ PRÁCI

Autorka práce: Mgr. Lucie Stejskalová

Název práce: Regulace exprese biotransformačních enzymů a transportérů placentární bariéry

Oponent: Doc. RNDr. Jan Vondráček, Ph.D.

Předložená disertační práce se zabývá velmi zajímavou problematikou regulace a funkce biotransformačních enzymů v placentě, se specifickým zaměřením především na regulaci a funkci cytochromu P450 1A1 (CYP1A1), jako hlavního enzymu, který je v placentárních modelech indukován ligandy Ah receptoru. Práce je tradičně členěna na teoretický úvod, metodiku, výsledky a diskusi. Součástí disertační práce jsou 4 články (2 review). Doktorandka se celkem podílela jako první autorka na 4 článcích již publikovaných v renomovaných zahraničních časopisech (z toho 2 review), a navíc je spoluautorkou 4 dalších článků publikovaných v časopisech s IF. Lze tedy konstatovat, že podmínky pro podání disertační práce byly rozhodně splněny. Cíle práce (na s. 60) jsou jasně definovány. Lze také konstatovat, že postup řešení práce, použitá metodika a výsledky odpovídají cílům disertační práce. Po formální stránce je předložená disertační práce velmi dobře zpracována, jen s minimem drobných chyb a nepřesností.

Konkrétní připomínky:

1) Teoretická část

V úvodu teoretické části autorka shrnuje současné poznatky o biotransformačních a transportních funkcích placenty. Další, hlavní část, je pak věnována zejména CYP1A1 a jeho hlavnímu regulátoru, Ah receptoru. Autorka podrobně rozebírá mechanismy regulace jeho exprese, jeho biotransformační funkci v organismu, včetně schopnosti bioaktivace prokarcinogenů, jako jsou polycyklické aromatické uhlovodíky, i další aspekty, jako jsou např. jeho inhibice či polymorfismus. Tato část práce je velmi podrobně a pečlivě zpracována a po obsahové či formální stránce k ní nemám připomínky. Autorka komentuje i dosavadní poznatky o expresi a funkci CYP1A1 v placentě. Závěrečná část teoretického úvodu je pak věnována problematice Ah receptoru, jako hlavního transkripčního faktoru regulujícího

expresi *CYP1A1*. Vzhledem k tomu, že autorka zahrnuje i účinky hypotetických endogenních ligandů AhR, bylo by možná vhodné rozšířit tuto část i o stručný komentář endogenní, fyziologické úlohy AhR v organismu, která si v posledních letech získává velkou pozornost.

2) Použité metody

Zahrnutí této části je po formální stránce jistě v pořádku, nicméně vzhledem k tomu, že metody jsou shrnuty také v rámci příloh, jeví se zahrnutí tohoto oddílu do disertace jako nadbytečné. Není potřeba podrobně komentovat principy obecně známých metodik, jako jsou např. Western blotting nebo RT-PCR.

3) Výsledky a diskuse

V rámci výsledků a diskuse jsou prezentovány výsledky, které již prošly oponentním řízením v průběhu publikačního procesu. Proto nebudu podrobeně rozebírat výsledky, ani komentáře k nim. Nicméně, vzhledem k tomu, že se jedná o zajímavé poznatky, rád bych autorce také položil několik otázek, které vesměs vyplývají z prezentovaných výsledků:

1) Vzhledem k tomu, že z výsledků vyplývá, že hladina CYP1B1 mRNA není v placentární tkáni indukována AhR ligandy, existují nějaké další možnosti regulace tohoto enzymu v placentárních modelech? Existují nějaká dostupná literární data, nebo pokusila se autorka detekovat např. inducibilitu CYP1B1 pomocí estrogenů či jiných steroidních hormonů?

2) Z výsledků vyplývá, že u linie JEG-3 bylo poměrně značné množství AhR proteinu přítomno také v jádře kontrolních buněk. Čím si to autorka vysvětluje? Je možné, že v rámci tohoto modelu je AhR částečně aktivován a translokován do jádra i v kontrolních buňkách? Mohla by odlišná lokalizace AhR v tomto modelu také přispívat k rozdílům pozorovaným (např. po působení glukokortikoidů) mezi buňkami JEG-3 a BeWo?

3) Výsledky disertační práce prokazují, že CYP1A1 je do značné míry unikátním biotransformačním enzymem v rámci placenty, který je regulován AhR. Ostatní studované enzymy byly jen minoritně, nebo vůbec indukovány ligandy AhR. Je něco známo o tom, jakým způsobem jsou v placentě indukovány další enzymy, jež autorka zmiňuje v souvislosti s tím, že jejich exprese na proteinové úrovni byla v tomto typu tkáně pozorována (viz kapitola 4.3.2)? Jsou známy faktory, které případně přispívají k jejich indukci?

Závěrem konstatuji, že předložená disertační práce představuje, po obsahové i formální stránce, kvalitní výstup postgraduálního studia. Autorka prokázala své tvůrčí schopnosti a předložená práce splňuje požadavky v daném oboru. Proto doporučuji, aby byla práce přijata k obhajobě a dalšímu řízení. Rovněž doporučuji, aby byl Mgr. Lucii Stejskalové po úspěšné obhajobě práce přiznán vědecký titul Ph.D. dle § 47 Zákona o vysokých školách č. 111/98 Sb.

V Brně dne 2.2.2012

Doc. RNDr. Jan Vondráček, Ph.D.
Biofyzikální ústav AV ČR, v.v.i.
Královopolská 135
612 65 Brno