



UNIVERZITA KARLOVA
Farmaceutická fakulta
v Hradci Králové

OPONENTSKÝ POSUDEK

disertační práce Mgr. Kateřiny Lněničkové „Modulace biotransformačních a antioxidačních enzymů vybranými přírodními látkami“

Charakterizace disertační práce

Námětem předložené disertační práce bylo experimentální studium některých biotransformačních a antioxidačních systémů, které mohou ovlivňovat osud a účinky endogenních látek a xenobiotik v organismu. Autorka se zaměřila na interakce vybraných látek z několika skupin přírodních sloučenin, které se potenciálně mohou vyskytovat v lidské stravě či v potravinových doplňcích v relevantní kvantitě, s biologickými systémy, o kterých je známo, že mohou ovlivnit farmakokinetiku léčiv. Při řešení problematiky bylo použito řady molekulárně biologických metod a řada dat byla získána s využitím experimentálních modelů *in vivo*.

Předložená disertační práce je tvořena úvodem a přílohou obsahující soubor textů sedmi prací disertantky, z nichž čtyři již byly publikovány v impaktovaných odborných vědeckých časopisech. Ostatní práce byly v době vypracování oponentury v recenzním řízení v impaktovaných časopisech zahrnutých v databázi WoS. V případě jedné publikované práce je uchazečka prvním autorem, v ostatních je spoluautorkou. Zaměření a obsah připojených publikací je v souladu s předmětem disertační práce.

Zhodnocení disertační práce

Studovaná problematika plně odpovídá oboru a lze ji pokládat za aktuální, neboť získání informací o interakcích přirozených složek potravy se systémy, které determinují farmakokinetiku léčiv, lze v současné době zvýšeného využívání potravních doplňků a přírodní stravy pokládat za důležitý předpoklad optimalizace farmakoterapie. Disertační práce splňuje po formální stránce předepsané požadavky. Je členěna na teoretický úvod a soubor připojených publikací. V úvodu autorka stručně popisuje současný stav poznání v dané oblasti a shrnuje základní teoretická východiska experimentálních prací. V této části autorka charakterizuje vlastnosti studovaných přírodních látek ze skupiny flavonoidů a terpenů. Věnuje se též přehledu o hlavních typech biotransformačních přeměn xenobiotik v organismu a systémům, které mají antioxidační ochrannou funkci. Literární přehled je psán fundovaně a srozumitelně, bez závažných obsahových nebo formálních nedostatků. Dále je uvedena i stručná charakterizace metodických přístupů, které autorka při své experimentální práci využila. Detailní popis použitých metod a výsledky, kterých bylo dosaženo, je uveden v příložených přílohách, obsahujících jednotlivé publikace a manuskripty. Výsledky každé ze zahrnutých prací jsou v závěru úvodní části práce zhodnoceny ve stručném komentáři. Cíle práce jsou definovány v předložené disertační práci adekvátně a srozumitelně a dosažené výsledky tyto

vytýčené cíle odpovídajícím způsobem naplňují. Podíl autorky na publikacích, jejíž výsledky jsou v práci prezentovány, je v disertační práci přesně specifikován v části 6.

Úroveň dosažených vědeckých výsledků obsažených v připojených publikacích je na velmi dobré odborné úrovni, o čemž svědčí skutečnost, že získaná experimentální data byla zveřejněna ve sděleních publikovaných v recenzovaných odborných časopisech s IF 2,416 až 2,861. Vedle původních prací *in extenso* je v práci dokumentováno, že uchazečka dokázala výsledky získané v rámci její výzkumné činnosti prezentovat na zahraničních a domácích konferencích ve formě přednášek nebo posterů.

Výsledky předložené disertační práce přináší nová a potvrzují některá publikovaná experimentální data o vlivu studovaných přírodních látek na ochranné biotransformační a antioxidační systémy organismu. Pozitivním rysem práce je prezentace dat, která byla získána pomocí poměrně širokého spektra metod na úrovni *in vitro*, ale i s využitím experimentálních modelů *in vivo*. Zvláště lze vyzdvihnout např. využití modelu primárních hepatocytů a myšího modelu s navozenou obezitou. Konfrontace skutečností zjištěných *in vitro* a *in vivo* umožnila autorce korigovat některé *in vitro* nálezy a současně postihnout molekulární mechanismy, které nelze studovat *in vivo*. Získané poznatky mohou přispět k lepší charakterizaci rizik spojených s příjmem potravy a potravních doplňků, které obsahují zkoumané přírodní sloučeniny, neboť údaje o modulaci biotransformačních a antioxidačních procesů testovanými látkami mohou být aplikovány při prohlubování znalostí o potenci těchto látek pro lékové interakce. Přestože zásadně významný vliv testovaných přírodních látek na sledované systémy s potenciálním klinickým dopadem nebyl v provedených studiích nalezen, i poznatky o nevýznamném vlivu, a tedy relativní bezpečnosti široce používaných přípravků, mohou být cenné. Práce může být oprávněně pokládána za hodnotný příspěvek k doplnění mozaiky znalostí o vlivu přírodních látek na studované biologické systémy a jejich funkci.

Připomínky a dotazy oponenta:

Publikovaná sdělení, která jsou součástí této disertační práce, prošla úspěšně důkladným recenzním řízením v odborných časopisech, což je dokladem jejich odpovídající kvality. Ostatní připravené rukopisy publikací zahrnuté do disertační práce, které již byly odeslány k oponentnímu řízení, vykazují srovnatelnou úroveň. Na některé možné drobné nedostatky oponent poukazuje v položených dotazech. Ovšem zásadní připomínky, které by zpochybňovaly cíle, metody, výsledky či závěry disertační práce oponent nemá. Po formální stránce je disertační práce na odpovídající úrovni. Následující připomínky a dotazy oponenta jsou proto, až na výjimky, zaměřeny hlavně na upřesnění některých údajů uvedených v teoretickém úvodu a v jednotlivých publikacích a na širší dopady předložené disertační práce:

1. V manuskriptu publikace IV je v metodické části (část 2.6) uvedeno, že typ inhibice byl stanoven pomocí dvojité recipročního znázornění dle Lineweavera a Burka. Ve výsledkové části práce nejsou však výsledky této analýzy uvedeny. Jde o záměr či nedopatření?
2. V jedné z prací jste zjistili nárůst aktivity UGT v játrech experimentálních zvířat po podávání brusinkového extraktu o 50% (str. 46). V závěru ovšem konstatujete, že jste celkově pozorovali mírné ovlivnění aktivit sledovaných biotransformačních enzymů. Je toto tvrzení kompatibilní s uvedeným nálezem?
3. Proč byly vybrány pro odběr orgánů při studiu vlivu seskviterpenů na biotransformační enzymy u myši intervaly 6 a 24 h po podání (str. 45)? Vzhledem k rychlé farmakokinetice u malých zvířat je už interval 6 h poměrně dlouhý pro sledování přímého inhibičního účinku, neboť velká část podaných látek by již mohla být eliminována.

4. V práci je uvedeno, že seskviterpeny mohou dosahovat po perorálním podání měřitelných koncentrací v krvi (str. 107). V jakém poměru jsou tyto zjištěné koncentrace ke koncentracím seskviterpenů testovaných ve vašich in vitro studiích s jaterními mikrosomy (publikace III a IV)?
5. V publikaci VII jste použili podání glutamátu k indukci obezity u novorozeneých myších mlád'at. Je znám mechanismus tohoto účinku? Mohl by existovat podobný účinek glutamátu i u novorozenců člověka?
6. V textu disertační práce (str. 65) upozorňujete, že posuzování indukčního účinku léčiv na enzymové systémy s použitím „one-point“ přístupu, jak je požadován při vývoji léčiv v současnosti FDA, není plně relevantní a dostačující. Jaký přístup byste dle svých experimentálních zkušeností doporučila?

Závěr:

Na základě výše uvedených skutečností konstatuji, že předložená práce Mgr. Kateřiny Lněničkové „Modulace biotransformačních a antioxidačních enzymů vybranými přírodními látkami“ splňuje požadavky kladené na doktorskou disertační práci v daném oboru a dokumentuje schopnost autorky samostatně vědecky pracovat na odpovídající úrovni. Kvalitu předložené práce je možné hodnotit jako plně adekvátní jak po obsahové, tak po formální stránce. Doporučuji proto uvedenou disertační práci k obhajobě, na jejímž základě by byl uchazečce udělen vědecký titul Ph.D.

V Hradci Králové dne 31.10. 2017

Doc. PharmDr. František Trejtnar, CSc.