



Oponentský posudek disertační práce Mgr. Tomáše Zárybnického

Potencial toxicity of terpenes and their effects in liver cells.

Disertační práce Mgr. Tomáše Zárybnického se zabývá studiem hepatotoxicity monoterpenů a seskviterpenů, jejich vlivem na expresi vybraných enzymů I. fáze metabolismu xenobiotik, ale také efektem na metabolismus cholesterolu a lipidů. Téma práce je velmi zajímavé a aktuální, zejména v dnešní době, kdy současná konzumace léčiv a přírodních látek je velmi častá a při nevhodné kombinaci biologicky aktivních látek může docházet k lékovým interakcím.

Práce má podobu komentovaného souboru publikací. První část tvoří krátký úvod do problematiky. Zde je uveden přehled struktur terpenů a jejich významné vlastnosti. Dále jsou popsány *in vitro* modely jaterních buněk, které se používají ve farmakologickém výzkumu. Jsou zde zmíněny jak 2D modely buněčných kultur, kde je zdůrazněna např. nezastupitelná úloha primární kultury hepatocytů, i přínosy 3D buněčných modelů. Zde je pozornost věnována např. využití jaterních řezů, jsou zmíněny modely sféroidů nebo izolovaná perfundovaná játra. V úvodní části je uveden i stručný přehled metod používaných pro predikci hepatotoxicity *in vivo*.

Druhou část disertační práce tvoří pět příložených článků. Čtyři z nich byly publikovány ve velmi kvalitních časopisech, např. Arch. Toxicol. 2018, IF 5,7, a disertant je v těchto publikacích 3x první autor, jednou druhý autor. Pátá práce je odeslána do tisku. Výsledky v uvedených publikacích dokumentují rozsáhlou experimentální zkušenost autora. Ve své práci používá pro sledování hepatotoxicity terpenů jaterní tkáňové řezy od lidských dárců, využívá metody a přístupy molekulární biologie, jako například stanovení hladin miRNA, RT-qPCR nebo „gene reporter assay“ v transfekovaných HepG2 buňkách pro stanovení interakce terpenů s PXR. Z mého pohledu velmi oceňuji použití jaterních tkáňových řezů pro sledování toxicity xenobiotik i pro sledování změny exprese biotransformačních enzymů. Jedná se o jeden z mála *in vitro* systémů, který umožňuje studium hepatocytů v kontextu dalších typů jaterních buněk.

Schopnosti Mgr. Zárybnického je možné vidět také ve třech kvalitních publikacích, které přímo nesouvisejí s tématem disertace.



Po formální stránce disertační práce budí jako celek velmi dobrý dojem. Obsahuje jen malé množství překlepů nebo formálních nedostatků. Teoretický úvod do problematiky je stručný, ale dostačující. Jsou jasně uvedeny cíle práce, jejichž splnění je dokumentováno předloženými publikacemi. Závěry vyplývající z disertační práce jsou formulovány jasně a srozumitelně a shrnují dosažené výsledky. Velmi oceňuji, že součástí předložené disertace je také kapitola, kde je jasně vymezen podíl předkladatele na publikacích zahrnutých v disertační práci.

Vzhledem k tomu, že předložená disertační práce přináší řadu nových poznatků, které byly ověřeny experimentálně a byly rovněž publikovány v prestižních mezinárodních časopisech, mohu s přesvědčením doporučit disertační práci Mgr. Tomáše Zárybnického k přijetí jako podklad pro udělení titulu Ph.D. ve smyslu příslušných právních norem.

K práci mám následující dotazy, které ovšem nesnižují její kvalitu a rozhodně neovlivňují výše uvedené hodnocení a závěr:

- 1) Dají se použít jaterní řezy ke studiu NAFLD (Non-alcoholic fatty liver disease) ?
- 2) Jaká je Vaše zkušenost s využitím HepaRG buněk při studiu biotransformačních enzymů?
- 3) Mohou terpeny působit jako epigenetické modulátory vzhledem k expresi biotransformačních enzymů?

V Olomouci dne 5.5.2020

Doc. RNDr. Eva Anzenbacherová, CSc.