

OPONENTSKÝ POSUDEK  
kandidátské disertační práce

Disertant: *MUDr. Petr Potměšil*

Téma disertační práce:

*Expresie cytokinů, zvláště chemokinů, po aplikaci acyklických nukleosidfosfonátů*

Obor: *Farmakologie a toxikologie*

Předložené písemné podklady pro obhajobu disertační práce MUDr. Petra Potměšila poskytují ucelený přehled o řešené problematice.

Disertační práce je členěna podle běžných zvyklostí. Cíle disertační práce, úvod a literární přehled, metodické přístupy, výsledky, diskuse a závěry jsou podány ve zkrácené formě, protože součástí předkládané disertační práce je plné znění čtyř publikací, které pro ni byly podkladem. Seznam 250 citací literatury svědčí o znalosti problematiky.

Doktorand je prvním autorem dvou publikací a druhým autorem dalších dvou publikací, které jsou základem disertační práce. Celkový seznam publikační aktivity MUDr. P. Potměšila, což je spoluautorství v dalších pěti publikacích, dokládá odbornou zdatnost doktoranda.

***Jelikož publikace, které jsou podstatou disertační práce, jsou výsledkem týmové spolupráce, ráda bych se zeptala na konkrétní podíl doktoranda při plánování a realizaci experimentů.***

**Text**

**Cíle disertace** si kladou za úkol prohloubit poznatky o imunobiologických vlivech ANP zejména s ohledem na jejich antivirové účinky. Zejména jsou diskutovány antivirové preparáty účinné při infekci HIV-1, kdy ANP (tenofovir) patří mezi jednu z nejperspektivnějších látek při terapii onemocnění AIDS. Presentované výsledky jednoznačně naplnily vstupní cíle disertace.

**Úvod a literární přehled** rozsahem a počtem citací odpovídá požadavkům kladeným na disertační práci.

**Experimentální část**

Materiál a metody

Oceňuji uvedení chemické struktury ANP a přehledné shrnutí použitých prumerů do Tabulky. Naopak mne překvapuje, že vůbec není uvedena charakteristika lidské buněčné linie THP-1 (ani objasněna zkratka názvu v textu ani v seznamu zkratk). Při použití nádorových buněk v experimentech nestačí, že jde o maligní buňky, ale je velmi podstatné znát jejich základní genetickou charakteristiku, imunofenotyp, karyotyp atp.

I dále v textu se vyskytují zkratky, které nejsou uvedeny v seznamu (CCR5, CXCR4), ale jsou alespoň v textu v závorce vysvětleny.

Některé formulace jsou zkratkovité, až slangové: ... ovlivňuje řadu genů zahrnujících cytokiny ... ; ... zvýšil transkripci mRNA pro receptory ..., ... kinázy... **proteinkinázy!!**

Jde však o drobnosti, které nesnižují formální, natož odbornou kvalitu disertační práce.

**Výsledky** jsou publikovány v recenzovaných časopisech.

Na standardním experimentálním *in vitro* modelovém systému (zejména izolované peritoneální makrofágy) byl detailně studován vliv vybraných ANP zejména na expresi TNF $\alpha$ , IL10, expresi INF $\alpha$  a INF $\beta$ , chemokinů RANTES, MIP-1 $\alpha$  a SDF-1 $\alpha$ . Dále byla sledována účast adenosinových receptorů a transkripčního faktoru NF- $\kappa$ B při imunomodulačním působení ANP. Imunomodulační účinky ANP byly posuzovány pomocí

metod molekulární genetiky. Byla použita metoda RT-PCR a následná detekce mRNA v 1,5% agarosovém gelu.

Výsledky jsou dokumentovány grafy a nálezy získanými pomocí elektroforézy. V textu shrnujícím publikační výstupy postrádám charakteristiku mRNA, tzn. uvedení bp. Uvedeny „žebříček“ bez údajů nic necharakterizuje. Je pravda, že v publikacích jsou hodnoty bp uvedeny, ale očekávala bych totéž i uvádějícím textu disertační práce.

Experimentální systém umožnil pomocí exprese mRNA studovat aktivitu vybraných produktů imunitního systému (konstitutivní a po imunomodulaci ANP) prostřednictvím vybraných cytokinů/chemokinů. Modifikace produkce cytokinů/chemokinů vlivem AMP ukázaly, že tyto látky mají významný imunobiologický potenciál, který by měl být zohledněn při jejich využití při terapii virových infekcí.

### **Autoreferát**

Předložený autoreferát je napsán v českém jazyce. Přehledným způsobem shrnuje studovanou problematiku. Obecné aspekty jsou doloženy seznamem literatury, která se konkrétně vztahuje k předkládané disertační práci. Zpracování autoreferátu umožňuje pochopení logiky experimentů. Cíle a závěry výzkumu jsou jasně definovány.

### **Dotazy**

Doktorand použil pro svou experimentální práci unikátní modelový systém, který umožňuje *ex vivo* standardní studium cytokinů/chemokinů produkovaných buňkami imunitního systému.

**Jsou výsledky imunobiologické studie Vaší Laboratoře získané na zvířecím modelu využity při posouzení účinnosti antivirotik odvozených od ANP syntetizovaných prof. A. Holým na lidských buňkách?**

**Uvažujete o rozšíření pohledu na imunobiologické účinky ANP i směrem k jejich protinádorové účinnosti? Imunoterapie patří mezi perspektivních směry terapie určitých typů nádorů.**

**Uvažuje se o případné podpůrné imunoterapii dalších onemocnění pomocí ANP, které vykazují významné imunomodulační účinky?**

### Závěr:

kandidátská disertační práce MUDr. Petra Potměšila na téma Expresie cytokinů, zvláště chemokinů, po aplikaci acyklických nukleosifosfonátů se vyznačuje odpovědným přístupem k řešení problematiky. Závěry založené na znalosti problematiky, literární rozhled, originalita nálezů a prezentace výsledků splňují podmínku, aby byla přijata k obhajobě. V případě kladného výsledku obhajoby předložená práce splňuje podmínky pro udělení vědeckého titulu PhD.

V Praze 11. 7. 2007

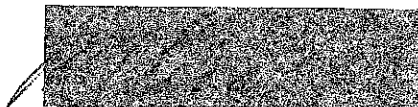


Doc. RNDr. Berta Otová, CSc  
Ústav biologie a lékařské genetiky  
Universita Karlova v Praze, 1. LF a VFN

Dodatek k posudku:

Na vyžádání školitele jsem zaslala v červenci 2007 výše uvedený posudek na pracoviště doktoranda (Ústav experimentální medicíny AV ČR). Na pracovišti proběhla interní oponentura Disertační práce a tudíž ve verzi práce, která mi byla zaslána 11.10.2007 předsedou oborové rady už jsou všechny moje připomínky opraveny.

V Praze 26. 11. 2007

A rectangular area of the document is redacted with a dense, dark, grainy pattern, obscuring the signature of the author.

Doc. RNDr. Berta Otová, CSc  
Ústav biologie a lékařské genetiky  
Universita Karlova v Praze, 1. LF a VFN