

Posudek disertační práce Ing. Hany Laštůvkové

„Farmakologická regulace homeostázy žlučových kyselin u
experimentální nealkoholové steatohepatitidy“

Disertační práce Ing. Laštůvkové se zaměřuje na vliv vybraných léčiv na homeostázu žlučových kyselin v modelech nejčastějších jaterních onemocnění. Výběr studovaných látek je v práci pečlivě odůvodněn a je založen na klinických situacích, ve kterých se studovaná léčiva často používají. Přesto, že se nejedná o léčiva nikterak nová, ale naopak látky v klinické praxi běžné, informace o použití těchto léčiv v rámci funkčních poruch jater stále nejsou dostatečné. Identifikace konkrétních mechanismů, kterými studované látky tyto poruchy ovlivňují tak představují hlavní náplň disertační práce. Jedná se o aktuální výzkumné téma, které má potenciál přinést nové a zásadní poznatky pro klinickou praxi v rámci terapie pacientů s jaterním onemocněním.

Disertační práce je psána vynikající češtinou s naprostým minimem chyb a překlepů. Má charakter tematicky zaměřeného souboru vědeckých publikací autorky, který je velmi vhodně doplněn úvodem s uvedením základních informací o homeostáze žlučových kyselin, popisem nealkoholové steatohepatitidy a stručnou charakteristikou studovaných látek (karvedilol, statiny). Třetí sledovaná látka labetalol, která stejně jako karvedilol patří do skupiny β -blokátorů však v kapitole 1.6 β -blokátory uvedená není. Stejně tak i cholestáze, jako druhému z použitých modelů onemocnění jater, není na rozdíl od nealkoholové steatohepatitidy věnována samostatná kapitola. Na druhou stranu je třeba uvést, že dostatečné informace k obojímu lze následně nalézt v částech Výsledky a Diskuse. Vzhledem k tomu, že předkládaná práce má preklinický charakter a studuje vliv látek na myším modelu bylo by také přínosné v rámci Úvodu doplnit kapitolu o rozdílech v homeostáze žlučových kyselin mezi lidským a myším organismem. Tyto informace jsou bohužel jen útržkovitě obsaženy v některých úvodních kapitolách a není jasné, jestli u kapitol, kde uvedeny nejsou je homeostáza žluč. kyselin u myší i lidí identická či nikoliv.

Úvod práce je vhodně doplněn obrázky, které výborně doplňují text a zpřehledňují zde uvedené informace. Obrázek č. 4 se však z tohoto pohledu zdá být nadbytečný, protože z velké části obsahuje informace již znázorněné na obrázku č. 3. V obrázku č. 1 uvedený parametr „potenciál“ u FXR a TGR5 je nevhodně přeložený anglický termín *potency*.

Hlavní připomínka k formální stránce disertace se potom týká práce s použitou literaturou. V textu se hojně vyskytují sekundární citace přehledových článků (např. Cheng et al. 2023 citováno 12x, Choudhuri & Klaassen 2022 citováno 10x), přičemž jsou tyto zdroje uvedeny u konkrétních tvrzení, ve kterých lze v přehledových člancích

najít odkaz na jednu primární publikaci. Nejedná se tedy o tvrzení, která by dávala do souvislosti více primárních zdrojů, kde by bylo použití odkazu na přehledový článek správné. Tímto přístupem autorka rezignovala na ověření informace v primárním zdroji a zvyšuje tak riziko dezinterpretace původních výsledků.

V několika málo případech také citace chybí nebo je interpretace nepřesná. Například str. 11. první odstavce „*Schopnost aktivovat FXR se mezi jednotlivými ŽK liší v pořadí CDCA>LCA>DCA>CA.*“ Chybí uvedení zdroje (Fleishman & Kumar, Signal Transduct Target Ther, 2024) a nejedná se o schopnost aktivace receptoru, ve smyslu vnitřní aktivity, ale o afinitu k danému receptoru. nebo str. 32 „*...inaktivace kináz typu JNK, NgBR, ERK1/2 nebo Akt (Zhang et al, 2018)*“ NgBR je receptor nikoliv kináza a citovaný článek uvádí zvýšení jeho exprese a inhibici ERK1/2 a Akt kináz.

U naprosté většiny použitých citací však postupuje autorka správně a nebyť těchto několika nedostatků byla by práce po formální stránce bezchybná.

Metody zvolené pro dosažení cílů stanovených v disertační práci zahrnují několik animálních modelů, které jsou doplněné v některých případech dílčími experimenty na lidských buněčných liniích a v jednom případě i stanovením biochemických parametrů v lidském séru. Uspořádání jednotlivých experimentů tvoří logické celky, jejichž cílem je maximálně komplexně popsat vliv studovaných látek na homeostázu žlučových kyselin. Sledovány tak jsou nejen samotné žlučové kyseliny v plazmě, žluči a stolici, ale i množství a exprese enzymů a transportérů podílejících se na jaterních a střevních procesech spojených s homeostázou žlučových kyselin a další parametry včetně střevního mikrobiomu. Vyzvednul bych především snahu o identifikaci konkrétních molekulárních mechanismů, které se na zjištěném efektu podílí a snahu o maximální extrapolaci dat z animálního modelu směrem ke klinickému použití testovaných léčiv.

Z popisu příspěvku kandidátky k jednotlivým publikačním výstupům je zřejmé, že si v rámci experimentální práce osvojila řadu experimentálních a molekulárně biologických metod, stejně jako další činnosti související s vědeckou prací. Nadprůměrnou publikační aktivitu autorky dokládají nejen kvalitní původní vědecké práce, které jsou součástí její disertace, ale dalších 7 článků jichž je spoluautorkou.

Závěrem lze říci, že disertační práce Ing. Hany Laštůvkové přináší nové informace o negativním vlivu labetalolu na myším modelu estrogenem navozené cholestázy, a naopak potvrzuje bezpečnost a výhodnost použití karvedilolu a atorvastatinu u experimentálního modelu nealkoholové steatohepatitidy. I když se jedná o data preklinická může mít tato práce důležitý přínos pro navazující preklinický výzkum s použitím lidských buněčných linií a organoidů, případně i výzkum klinický. Nově získaná data mohou pomoci identifikovat skupiny těhotných pacientek léčených labetalolem se zvýšeným rizikem cholestázy a podpořit použití karvedilolu a atorvastatinu jako bezpečných léčiv u pacientů s nealkoholovou steatohepatidou.

K práci mám následující dotazy:

1. Jaké jsou rozdíly ve farmakokinetice testovaných látek u myší a lidí, respektive mohou tyto rozdíly hrát roli v extrapolaci získaných výsledků do klinické praxe?
2. Farmakodynamický profil obou testovaných betablokátorů je podobný, ale každý byl testován v jiném experimentálním modelu. Myslíte si, že popsané účinky lze generalizovat jako skupinový efekt pro kombinované α_1/β antagonisty v použitých modelech? Jaký vliv na žlučové kyseliny byste v použitých modelech očekávala u dalších skupin betablokátorů (neselektivní, kardioselektivní, vliv ISA)?
3. Jaké léčivo by mohlo být bezpečnější alternativou k labetalolu u pacientek s preeklampií a predispozicí k cholestáze?
4. V experimentu s atorvastatinem jste popsala inhibici biosyntézy žluč. kyselin. Jiní autoři, které citujete (Schonewille et al, 2016) popisují upregulaci CYP7a1 a CYP8b1, napadá Vás nějaké vysvětlení?

Závěr

Disertační práce Ing. Hany Laštůvkové **zcela splnila stanovené cíle a prokazuje předpoklady autorky k samostatné tvořivé vědecké práci a doporučuji ji k obhajobě a k udělení titulu Ph.D. za jménem.**

V Brně dne 14.1.2025

doc. PharmDr. Ondřej Zendulka, Ph.D.

Farmakologický ústav

Lékařská fakulta, Masarykova univerzita