

## Oponentský posudek

na doktorskou disertační práci „Liver gangliosides in estrogen-induced cholestasis“

Autor: ing. Filip Majer

Oponent: doc. RNDr. Olga Nováková, CSc.

Autor se ve své práci věnuje cholestáze, která představuje závažný patologický stav a může být příčinou selhání funkce jater když není včas léčena. Pro svá studia si zvolil experimentální model cholestáze vyvolané u potkanů po podání ethinylestradiolu. Při volbě tématu práce vycházel z předpokladu, že akumulace značně hydrofóbních žlučových kyselin může poškodit v první řadě buněčné membrány jater, vzhledem k jejich silně detergentním vlastnostem. Navíc, nadbytek žlučových kyselin v játrech vyvolává akumulaci prekurzoru cholesterolu zpětnovazebnou inhibicí jejich biosyntézy, což vede ke snížení fluidity membrán. Dalšími membránovými lipidy, které jsou spojovány s regulací fluidity membrán a s přenosem signálu jsou gangliosidy. Z tohoto důvodu se práce zaměřila na studium gangliosidů, které z kvantitativního hlediska sice nepatří mezi majoritní membránové lipidy, ale jsou významné z hlediska jejich potenciálního využití pro diagnostiku a terapii řady patofyziologických poruch.

Doktorská práce má obvyklé formální členění. Autor na 20 stranách přináší přehled nejnovějších poznatků týkajících se různých příčin cholestáze a přehledně popisuje proces homeostáze žlučových kyselin v hepatocytech včetně lokalizace jednotlivých metabolických pochodů. Podrobněji se zabývá mechanismem indukce cholestáze vyvolané podáním estrogenů a jejím efektem na fluiditu membrán. Další rozsáhlá část literárního přehledu je věnována metabolismu gangliosidů, jejich transportu a funkci v polarizovaných buňkách. Po metodické stránce představuje práce širokou škálu přístupů, které byly použity k analýze gangliosidů a pro ověření získaných výsledků. Vedle analýzy pomocí různých chromatografických metod, byla použita světelná mikroskopie, histochemie a kvantitativní real time PCR. Výsledky jsou přehledně publikovány v 11 tabulkách a čtrnácti grafech nebo obrázcích. Práce přináší originální nálezy, které ukazují změny v kvantitě, zastoupení a lokalizaci různých typů gangliosidů v membránách jaterních buněk při indukované cholestázi. V diskusi jsou velmi dobře hodnoceny jednotlivé metodické přístupy a vlastní výsledky jsou kriticky interpretovány v kontextu s nejnovějšími poznatky. Z výsledků byly dosud publikovány dva články v impaktovaných časopisech.

K doktorské práci mám jen drobné formální připomínky, které však nesnižují její kvalitu:


1. U tabulek a obrázků někdy chybí vysvětlivky použitých zkratk, které je proto nutné hledat v seznamu zkratk, kde nejsou všechny uvedeny.
2. V tabulce 4-9 je uvedena densitometrická kvantifikace jako „mean optical brightness“, není však vysvětleno co tento pojem představuje. V tabulce 4-11 není úplně zřejmé v jakých jednotkách jsou hodnoty densitometrické kvantifikace uvedeny. Jde v obou tabulkách o stejné vyjádření a jak je definováno?

Dále mám dvě otázky:

1. V textu autor cituje práci, která ukázala, že u pacientů s cholestázou byla pozorována snížená fluidita plasmatické membrány erytrocytů, jde principiálně o stejný jev jako u jaterních buněk? Lze předpokládat také změny v gangliosidech a byly v této souvislosti analyzovány?
2. Autor získal řadu originálních nálezů, důležitých v oblasti biomedicínského výzkumu, mohl by naznačit jejich možné využití v klinické praxi?

Vzhledem ke kvalitě výsledků a z nich vyplývajících publikací jsem přesvědčena, že předložená práce splňuje podmínky pro získání titulu PhD. a doporučuji, aby byla přijata k obhajobě a postoupena k dalšímu řízení.

V Praze dne 28. května 2008

  
doc. RNDr. Olga Nováková, CSc.  
Universita Karlova v Praze,  
Přírodovědecká fakulta,  
Katedra buněčné biologie