



## **Oponentský posudek na doktorskou dizertační práci**

|                    |  |
|--------------------|--|
| Název práce:       | Látky s endokrinně disruptivním účinkem v životním prostředí |
| Předkládá:         | RNDr. Martin Ezechiáš (PřF UK Praha)                         |
| Posudek zpracoval: | Prof. RNDr. Luděk Bláha, Ph.D. (PřF MU Brno)                 |

### *1. Odborná charakteristika řešeného vědeckého tématu*

Dizertační práce se věnuje problematice endokrinních disruptorů (ED) se zaměřením na látky působící o přímé interakci a modulaci jaderných receptorů. Vědecky i z hlediska praktického posuzování rizik jde o aktuální téma, které otevírá řadu otázek o vlivech ED na zdraví člověka i "zdraví" bioty v ekosystémech.

Výsledky prezentované dizertační práci (konkrétně v přílohách) jednak shrnuly vybrané aspekty environmentálních rizik tzv. nových typů bromovaných retardantů hoření a identifikovaly aktuální mezery v poznacích (review v publikaci 3) a dále přinesly řadu originálních poznatků pro oblasti:

- (i) komparativní mechanistická toxikologie bromovaných retardantů hoření (publikace 1) a široce užívaných léčiv (publikace 6);
- (ii) výzkum metabolitů a produktů (bio)transformačních reakcí modelových ED (steroidní estrogyeny, alkylfenoly, triclosan - publikace 2, 4, 5, 9);
- (iii) teoretické modelování interakcí (a účinků) ligandů s jadernými receptory včetně modelování účinků jejich směsí (publikace 7 a 8)

O zkušenostech kandidáta i celého řešitelského týmu svědčí vlastní publikace, kde student je prvním autorem 4 článků vyšlých v prestižních ISI WOS časopisech (Chemosphere, Ecotoxicology and Environmental Safety, Toxicology), je spoluautorem dvou dalších vyšlých impaktovaných článků (ES&T a Desalinization and Water Treatment) a spoluautorem jednoho vyšlého článku v recenzovaném časopisu bez IF (JMEST). Dále jsou v práci dva další originální rukopisy.

## 2. Dizertační práce

Práce má podobu **kompilace 9 originálních prací** (viz nahoře; u prací je zřetelně vyznačen podíl studenta) ke kterým je dále přidána teoretická souhrnná úvodní část (celkem 37 stran textu + cca 250 referencí). Sedm z uvedených prací již vyšlo a prošlo peer-review procesem což jednoznačně prokazuje dobrou kvalitu realizovaného výzkumu. Prvoautorství studenta na čtyřech z těchto publikací také jasně demonstruje jeho schopnosti samostatné tvůrčí vědecké práce.

**Úvodní část** práce se jeví jako standardně členěná - abstrakty, stručný úvod, teoretické texty následované jednostránkovým popisem cílů práce (odpovídající jednotlivým publikacím v přílohách) a dvoustránkovou kapitolou Závěry. Dobrý dojem z práce však zmizí při detailním čtení těchto úvodních textů, jejichž nekvalitní zpracování je v přímém kontrastu s vlastním realizovaným výzkumem (tj. publikacemi v přílohách).

Úvodní části jsou problémové z mnoha pohledů a bohužel působí jako slepenec textů, které se odkudsi sesypaly a v poslední chvíli vlepili do dizertace.

1. Chybí vymezení - tj. užší definice problematiky, které se má teoretická část věnovat. Toto chybějící vymezení, které je ovšem nezbytné pro zúžení extrémně široké problematiky ED látek a souvisejících problémů, se pak projevuje neujasněností a skečovitostí textu a otevírá zřejmé otázky - jako například: Proč se autor věnuje pouze interakcím s jadernými receptory a alespoň krátce nepředstaví i ostatní mechanismy ED? Proč nejsou alespoň zmíněny další jaderné receptory (jako např. GR, RAR/RXR, PPAR)? Podle jakého kritéria byly vybírány látky, o kterých se píše v kapitole 3? ... atd.
2. Chybí provázanost teoretického úvodu s vlastním výzkumem. Úvod je velice obecný a příliš široce rozkročený a nemá potřebný detail, k problematice specifických realizovaných aktivit (publikace v přílohách) se vztahuje jen okrajově. Daleko vhodnější a logičtější by bylo, kdyby se autor zaměřil specifičtěji na svůj vlastní výzkum a text nestrukturoval například podle tří tematických oblastí (viz nahoře v tomto posudku - (i) komparativní mechanistická toxikologie, (ii) transformace ED a jejich metabolismy, (iii) teoretické modelování interakcí).
3. Obsahová nevyváženost jednotlivých kapitol. Dílčí kapitoly obsahují velice různorodé informace a je problém se v textu vyznat. Například v rámci sekce 3: u některých (skupin) látek jsou rozebírány detailně interakce s jadernými receptory a jen minimálně se diskutují informace o biomarkerech či zdravotních dopadech (u jiných skupin látek jsou naopak uvedeny pouze kusé informace o dopadech, ale mechanistické detaily chybí). Dále - proč jsou např. u ftalátů diskutovány pouze ER a ThR (a ne další jaderné receptory?). Kapitoly 3.11 vs 3.12 - proč jsou odděleny Polyfenoly a Fytoestrogeny (obě skupiny se strukturně i biologicky překrývají)? Obdobně nelogicky - proč je pesticid DDT

(kapitola 3.8) vyčleněn z kapitoly Pesticidy (kapitola 3.7)? Proč jsou v kapitole 3.7.1 diskutovány jen pyretroidy a methoxychlor (a ne další pesticidy)? Kapitola 3.10 UV-filtry - není možné všechny látky s vlastnostmi UV filtrů (které mají navíc velice variabilní chemickou strukturu) hodit do jednoho pytle a jejich ED vlastnosti okomentovat na 5 řádcích.

4. Faktické chyby. Následující výčet uvádí jen vybrané příklady: Str. 17 - tvrzení "Koncentrace estradiolu v krvi řídí a určuje menstruační cyklus žen" není korektní, protože jde o daleko složitější problém. Str. 21 dole - "Ah receptor (AhR) patří do skupiny nukleárních receptorů" - toto není pravda, protože AhR je transkripčním faktorem z rodiny bHLH (a nikoliv z rodiny jaderných receptorů). Str. 22 - Tvrzení "Všechny geny, které jsou transkripčně řízeny AhR, kódují enzymy odpovědné za metabolismus..." není pravdivé, protože DRE/XRE jsou v promotorech mnoha dalších genů s velice různorodými funkcemi. Str. 28 - není pravda, že PCDD jsou látky čistě antropogenního původu bez přirozeného zdroje (vznikají při spalování včetně přírodních procesů). Rovnice 5 (strana 46) - chybí mocnina  $n$  ve jmenovateli (a další).
5. Problémy s originalitou. V textu se vyskytují celé odstavce, které byly doslovně vykopírovány z populárně naučných stránek českého internetu a byly do nich jen doplněny citace, které však odkazují na málo relevantní publikace. Např. str. 21 "Častým projevem je svalová adynamie, neboli svalová slabost, která může pacientovi způsobovat značné problémy při chůzi po schodech nebo vstávání ze dřepu. Objevuje se hlavně na svalech v oblasti hýždí a stehen. Na rukou je viditelný a dobře hmatný jemný třes" (stejný text je na <http://nemoci.vitalion.cz/hypertyreozal/>)
6. Problematické používání citací. Příklady: Viz např. předchozí odstavec - ad hoc vložení "chybějících" referencí. Pro některá důležitá tvrzení zcela chybí citace (např. strana 20 - "Buňky s thyroïdním receptorem jsou přítomny téměř ve všech tkáních ...", nebo str. 16 - "Je známo, že oba typy ERa i ERb jsou přítomny ...."). Na několika místech se v obecných biologických otázkách práce neodkazuje na originální články nebo učebnice, ale na diplomové práce z archivu UK (např. str. 15 dole ... "Mžik, 2011")

Kromě úvodní části je "práce na poslední chvíli" patrná i z Publikace č. 8, kde autor deklaruje, že jde o rukopis poslaný do časopisu Scientific Reports, ale rukopis sám obsahuje na první pohled patrné nedostatky, kdy např. v částech ABSTRACT a ACKNOWLEDGEMENTS nejsou reálné texty ale pouze instrukce vydavatele.

### 3. Věcné otázky do diskuze při obhajobě dizertační práce

- Autor správně diskutuje, že **vazba ligandu (chemikálie) na jaderný receptor** je jen jedním z kroků, který může ve svém důsledku vést k negativním

Masaryk University, Research Centre for Toxic Compounds in the Environment (RECETOX)

Kamenice 753/5, pavilion A29, 625 00 Brno, Czech Republic  
T: +420 549 495 338, E: [info@recetox.muni.cz](mailto:info@recetox.muni.cz), [www.recetox.muni.cz](http://www.recetox.muni.cz)  
Bank info: KB Brno, Account No.: 85636621/0100, ID: 00216224, Tax ID: CZ00216224



(toxickým) účinkům. Prosím o podrobnou diskuzi dalších molekulárních mechanismů a procesů uvnitř cílové buňky, které ovlivňují případný následný biologický účinek. Toto je důležité zejména při hodnocení směsí, kdy jednotlivé látky mohou mít velice různorodé molekulární cíle a účinky v buňce. (Pro ujasnění - jaké mohou být role protein-kináz či proteinových kofaktorů a dalších při modulaci jaderných receptorů?)

- Dotazy k publikaci 8:
  - Jakým způsobem by autor pracoval s látkou, u které experimentálně není možné v oblasti necytotoxických koncentrací prokázat žádné "plateau" (maximum) v biologické odpovědi (tj. s koncentrací stále roste odezva)? Je možné modely adaptovat pro tyto případy?
  - Bylo by možné integrovat do modelů a kalkulací také faktor času - například rozdílná doba expozice nebo rozdílná doba projevu účinku během expozice?

#### 4. Závěry

Vlastní vědecké výsledky v předložené dizertační práci jsou aktuální a kvalitní. Cíle, realizované experimenty, metody, výsledky a diskuze v rámci jednotlivých studií dokumentují dobrou orientaci autora v problematice a jeho tvůrčí schopnosti a samostatnost. Kvalitu dizertačního spisu bohužel negativně ovlivňuje úvodní textová část.

V Brně 14.3.2017



**Luděk Bláha**