



UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE
FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ

500 05 Hradec Králové, Heyrovského 1203, Česká republika, <http://www.faf.cuni.cz>
tel. +420495067111, fax +420495518002

OPONENTSKÝ POSUDEK

disertační práce Mgr. Petry Hiršové „Effect of epigallocatechin gallate on bile production“

Charakterizace disertační práce

Námětem předložené disertační práce bylo experimentální studium působení epigallokatechinu na produkci žluče za normálních a patologických podmínek. Autorka se především zaměřila na zkoumání vlivu testované látky na tvorbu žluče, na homeostázu žlučových kyselin a na ovlivnění exkrece cholesterolu a metabolismu epigallokatechinem.

Předložená disertační práce je tvořena teoretickým přehledem, experimentální částí a přílohami, které obsahují texty prací disertantky, které byly publikovány nebo byly přijaty k publikaci v impaktovaných odborných vědeckých časopisech. Zaměření a obsah připojených publikací je v souladu s předmětem disertační práce.

Zhodnocení disertační práce

Téma disertační práce plně odpovídá oboru a lze je pokládat za velmi relevantní a aktuální, neboť poznání mechanismů hepatobiliární exkrece a jejího ovlivnění farmakou je důležitým předpokladem pro další vývoj v oblasti léčby některých jaterních poruch. Práce splňuje po formální stránce předepsané požadavky a obsahuje jak formulaci studované problematiky, přehled současného stavu poznání v dané oblasti, popis zvolených metod řešení, výsledky, kterých bylo dosaženo, seznam použité literatury a k práci je připojen i adekvátní souhrn výsledků zkoumání. Cíle práce jsou definovány v předložené disertační práci velmi přesně a srozumitelně, a dosažené výsledky tyto vytýčené cíle odpovídajícím způsobem naplňují.

Úvodní teoretická část práce stručně a přehledně shrnuje současné poznatky v dané oblasti. K vypracování tohoto teoretického úvodu bylo použito více než 170 publikací, z nichž většina je z posledních 5 let. Literární přehled je psán fundovaně a srozumitelně, bez závažných obsahových nebo formálních nedostatků.

Experimentální metody, které byly autorkou použity k získání předložených výsledků, zahrnují techniky prováděné in vivo, postupy založené na využití buněčných linií nebo primárních buněk a řadu metod molekulárně biologických. Úspěšné zvládnutí a rutinní použití

uvedených metod svědčí o schopnosti uchazečky pracovat v experimentální laboratoři velmi precizně a odpovědně.

Předkladatelka disertační práce prokázala schopnost předávat výsledky dosažené v experimentální práci vědecké veřejnosti, což dokazuje úspěšná prezentace získaných výsledků formou publikací v odborných časopisech. Uchazečka je hlavní autorkou dvou publikací s IF 2,516 a 3,681. Podíl autorky na experimentálních pracích, jejichž výsledky jsou v disertační práci a přiložených publikacích prezentovány, není sice v práci výslovně uveden, ale na základě těchto publikací, ve kterých je vždy první autorkou, lze předpokládat její rozhodující příspěvek k získaným výsledkům.

Výsledky předložené disertační práce přinášejí originální poznatky o mechanismech působení běžně konzumované polyfenolické látky na tvorbu žluče a její složení, což přispívá k vysvětlení zatím nejednoznačných údajů předchozích experimentálních preklinických i klinických studií týkajících se této problematiky. Zaměření a výsledky práce mohou být přínosné nejen pro poznání studovaných procesů, ale v budoucnosti mohou mít i aplikovatelný praktický význam při formování prostředků ovlivňujících hepatobiliární poruchy.

Jako velmi významné lze především hodnotit prokázání stimulačního vlivu epigallokatechinu na hepatobiliární exkreci cholesterolu a fosfolipidů. Zajímavý je též nález downregulace intestinálních transportérů u potkanů s cholestasou po podání ethinylestradiolu jako možného adaptačního mechanismu při této poruše. Další výsledky, kterých autorka dosáhla, potvrzují a doplňují předchozí nálezy jiných autorů ve studované oblasti. Ocenění si zaslouží použití kombinace několika modelů ke studiu dané problematiky, což umožnilo získat komplexnější údaje o mechanismech, kterými může epigallokatechin ovlivnit sledované jaterní funkce. Práce vysvětluje velmi racionálně i některé rozdílné nálezy získané s použitím jednotlivých experimentálních metod. Přestože nalezená data vedla v některých směrech k nejednoznačným závěrům o vlivu studované látky na tvorbu žluče a homeostázu žlučových kyselin, přispěla práce významně k poznání mechanismů těchto procesů a bude jistě inspirovat autorku či jiné badatele k dalšímu zkoumání této problematiky.

Připomínky a dotazy oponenta:

Zásadní připomínky, které by zpochybňovaly cíle, metody, výsledky či závěry předložené disertační práce oponent nemá. Následující připomínky a dotazy oponenta jsou proto zaměřeny na drobné formální nedostatky a na upřesnění některých údajů uvedených v práci:

1. V obrázku 5 chybí zobrazení funkce MRP2, ačkoliv se v textu správně o tomto efluxním transportéru hovoří jako o jednom ze základních mechanismů důležitých pro produkci žluče.
2. Zatímco odhad koncentrací epigallokatechinu v krvi při podaných dávkách experimentálním zvířatům je v práci uveden, pravděpodobné koncentrace ethinylestradiolu po podání použité dávky nejsou diskutovány. Na základě jakých údajů byly odvozeny aplikované dávky EE? Jaké hladiny estrogenů mohly být dosaženy?

3. V experimentech byly použity samice potkanů. Existují informace o vlivu estrálního cyklu na produkci a složení žluči u těchto zvířat? Mohlo by dojít k ovlivnění výsledků experimentů vlivem fyziologických změn během cyklu?

4. V práci diskutujete řadu možných příčin diskrepancí v účinku EPCG na funkci FXR nalezené v experimentech s různými modely. Nemohl by rozdíl ve výsledcích být ovlivněn i přítomností různých metabolitů či různým poměrem parentní látka/metabolit in vivo a in vitro?

5. Existují i další katechiny či jiné flavonoidy, u kterých byl zjištěn vliv na tvorbu či složení žluče?

4. Transinhibice, deklarovaná jako mechanismus účinku metabolitů estrogenu na funkci BSEP, je výjimečným či běžným způsobem regulace funkce membránových transportních systémů?

5. V teoretickém úvodu se zmiňujete o přírodních látkách, které mohou ovlivňovat tvorbu žluče. Jednou z uváděných látek je genipin, stimulující funkci MRP2. Je známo, jakým mechanismem ovlivňuje tato látka funkci MRP2? Jde o indukci či se jedná o jiný mechanismus?

9. Obsahují významný podíl epigallokatechinu kromě zeleného čaje i nějaké další rostlinné drogy?

Závěr:

Na základě výše uvedených skutečností konstatuji, že předložená práce Mgr. Petry Hiršové „Effect of epigallocatechin gallate on bile production“ splňuje požadavky kladené na doktorskou disertační práci v daném oboru a dokumentuje schopnost autorky samostatně vědecky pracovat na odpovídající úrovni. Odbornou kvalitu předložené práce je třeba hodnotit jako naprosto adekvátní. Doporučuji proto uvedenou disertační práci k obhajobě, na jejímž základě by byl udělen uchazečce vědecký titul Ph.D.

V Hradci Králové dne 23.11. 2012

Doc. PharmDr. František Trejtnar, CSc.