

OPONENTSKÝ POSUDEK NA DIZERTAČNÍ PRÁCI

Autor práce: Mgr. Michala Vařejčková

Název práce: Sledování vlivu statinů a solubilního endoglinu na markery endotelové dysfunkce u vybraných buněčných linií a kultur

Školitel: Prof. PharmDr. Petr Nachtigal, Ph.D.

Konzultant: RNDr. Ivana Němečková, Ph.D.

Pracoviště: Univerzita Karlova v Praze, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové, Katedra biologických a lékařských věd

Dizertační práce Mgr. Michaly Vařejčkové se zabývá studiem vlivu solubilního lidského endoglinu (sEng) a hypolipidemika atorvastatinu na markery zánětu, endotelové dysfunkce a oxidačního stresu na primárních buněčných lidských kulturách, zejména endotelové povahy. Hned na úvod je vhodné vyzdvihnout silné stránky této práce. Jedná se o velmi homogenní práci, tj. autorka se systematicky věnuje danému tématu a snaží se rozklíčovat složitou a obtížně pochopitelnou kaskádu TGF β -endoglin. Tato tematika je ve skupině Prof. Nachtigala už dlouhodobě řešena, ale pokud se nepletu, tak jde o první dizertační práci, která se týká výlučně studia na buněčných kulturách. Určitě je vhodné vyzdvihnout také vědecký přínos této práce: nálezy ukazující na pravděpodobně pozitivní vliv atorvastatinu na endotelovou dysfunkci a další objevy týkající se zapojení endoglinu do této komplikované signalizace jsou určitě přínosné pro důkladnější pochopení této kaskády i mechanismů nehypolipidemického působení statinů. Velmi pozitivně také hodnotím, že exprese mRNA i proteinů byla hodnocena současně a také, že k analýze byly použity různé metodiky. Výsledky jsou o to cennější, že často nedochází ke shodě mezi expresí mRNA a proteinů, což ukazuje na další, zatím neznámé, regulační kaskády.

Kandidátka je v současné době autorkou 6 publikací s IF, které se také všechny věnují dané problematice. Je hlavní autorkou v podstatě u dvou prací: u jedné publikace je uvedena jako hlavní autorka a u další sice na druhé místě, ale s poznámkou, že přispěla stejnou měrou jako 1. autorka.

V teoretickém úvodu se autorka detailně věnuje charakterizaci dané signální kaskády. Je vidět, že Mgr. Vařejčková má tuto oblast velmi dobře nastudovanou. Pro čtenáře, neúplně seznámeného s danou problematikou, je to ale obtížné téma, dané hlavně častými protichůdnými publikovanými výsledky. Metodická část i výsledky jsou dobře srozumitelné a diskuze odpovídá dizertační práci.

V práci se vyskytly drobné chyby a formální nepřesnosti:

s.4-5 - Všechny zkratky v abstraktu by měly být alespoň stručně vysvětleny (např. MMP-14, eNOS),

s.15 – „Endotel uvolňuje i substance, které jsou významnými modulátory zánětlivých procesů a endotelové dysfunkce, např.....cyklooxygenázu-1 (COX-1) a cyklooxygenázu 2 (COX-2).“ - opravdu endotel uvolňuje COX-1 a COX-2 ?

s. 25 – „Intracelulární doména (Eng) obsahuje serin a threonin“ – předpokládám, že nejen

s. 31 – „ovlivnění rekombinantním sEng...vedlo k redukci Smad2/3 a následné inhibici eNOS a poté k vasodilataci“ – opravdu došlo k vasodilataci ?

s.35 – „statiny přírodního původu: lovastatin, simvastatin a pravastatin“ – lépe přírodního původu a jejich blízké semisyntetické deriváty.

s.35 - nesoulad mezi tabulkou 1 a textem, v textu je pitavastatin (navíc uveden jako piatavastatin) uveden jako lipofilní, v tabulce pak jako hydrofilní. V tabulce 1 musím jako farmakolog zdůraznit nepřesnosti – např. fluvastatin je metabolizován hlavně 2C9 (jen méně 3A4 jak je uvedeno)

použití anglikanismů není nejvhodnější - s. 40 („vystárvovány“ a „bovine serum albumin“), s. 41 „seznam suplementů“, s. 47-48 „RPM“ (navíc by mělo být uvedeno v g ne v otáčkách), s.54 („Efekt ATV“) a s. 94 „equally contributed“

s. 49 – „genu, který byl vložen do herpes simplex genu thymidin kinázou“ – předpokládám „pro tymidinkinasu“

s. 50, statistická analýza – autorka píše, že výsledky jsou uváděny jako průměr ± SEM. U všech obrázků ve výsledkové části je toto znovu opakováno.

s.59 – místo 11B uvedeno 10B

K práci mám následující tři dotazy:

s. 42 – „Vzorky byly homogenizovány v RIPA pufru s inhibitory proteáz (SERVA, Německo) a inhibitory fosfatáz (ThermoFisher Scientific, USA)“ – O jaké inhibitory se jednalo ?

s. 63 – Rozdíly mezi expresí mRNA pro IL6 navozenou po podání 40 a 500 ng/ml sEng pomocí dvou metodik (Obr. 14A a B) jsou výrazné zejména pro vyšší dávku, jak si autorka tyto rozdíly vysvětluje ?

s. 72-74 – Studium vlivu rekombinantního solubilního endoglinu na membránový endoglin je zajímavé, co bylo podkladem pro takovou studii ?

Závěrem lze shrnout, že Mgr. Vařejčková splnila podmínky kladené na dizertační práci. Navíc lze její výsledky považovat za jednoznačně přínosné pro širší vědeckou obec a její vědeckou aktivitu za velmi dobrou. Její dizertační práci tedy doporučuji k obhajobě jako podklad k získání titulu Ph.D.

V Hradci Králové 2. srpna 2017

.....

doc. PharmDr. Přemysl Mladěnka, Ph.D.

Katedra farmakologie a toxikologie

Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Karlova Univerzita