

## **Oponentský posudek disertační práce „Vliv složek extracelulární matrix na buňky kultivované in vitro“**

Předložená disertační práce má vztah k jaterní fibróze a cirhóze jako závažným patologickým stavům s poměrně vysokým výskytem. Význam takového výzkumu je podpořen tím, že podle novějších výzkumných prací je možno jaterní fibrózu zvrátit a každé dílčí poznání procesu rozvoje i případné reverzibility fibrózy na molekulární úrovni může přispět i k budoucímu směru racionální terapie.

Samotná práce je prezentována na 93 stranách textu včetně obrázku, grafů, tabulek a seznamu použité literatury. Její součástí jsou dále 3 příložené publikace, v nichž jsou výsledky disertace obsaženy. Práce je celkem obvykle členěna.

Celá práce je sepsána bezchybně. Pokud se budu dále věnovat jednotlivým částem práce, uvedu hned drobné připomínky s tím, že nesnižují vlastní hodnotu získaných výsledků a závěrů.

Předmluva seznámí čtenáře se základními údaji, týkajícími se řešeného tématu. Po předmluvě následuje část označená Cíle práce a poté Úvod do problematiky. Možná by bylo zejména pro čtenáře a posuzovatele vhodnější, kdyby byl nejdříve seznámen v plném rozsahu se současným stavem problematiky, z něhož by vyplynulo, co je naléhavé nebo vhodné v příslušné oblasti studovat a proto to bude cílem práce.

Úvod do problematiky seznamuje čtenáře na téměř 30 stranách se současným stavem problematiky. Tato část je napsána velmi hutně. Vzhledem k rozsahu problematiky je to pochopitelné. Na druhou stranu celkový rozsah práce formálně není velký, takže nehrozí, že by jeho rozsah čtenáře odradil a autorka by se musela bát text poněkud rozvolnit. Je dobře, že pro lepší porozumění textu jsou zde vhodně zařazeny obrázky z oboru morfologie a také přehledné tabulky. Čtenář s nižší představivostí by uvítal, kdyby byl text proložen dalšími schématy a obrázky, které by ilustrovaly vztahy jednotlivých popisovaných faktorů na biochemické úrovni, jak by to odpovídalo kvalifikační práci v oboru lékařské chemie a biochemie, a povzbudily čtenářovu obrazotvornost.

V textu je použito více než 50 zkratk, které jsou pro orientaci vhodně seřazeny a uvedeny na začátku práce. Řada těchto zkratk je už běžně zavedená a známá i mně (růstové faktory, interleukiny), dále jsou používány některé zkratky, které jsou užitečné a použité s výhodou, protože by se názvy struktur v textu často opakovaly (např. HSC pro jaterní hvězdicové buňky). Některé další jsou možná méně potřebné a jejich použitím se porozumění textu nezvýší, např. fosfátový pufr, Tris pufr, myofibroblasty atp. Naopak by se text rozvolnil a stal se ještě čtivějším. Postupoval jsem proto při čtení tak, že jsem si nejdříve vytiskl 2 strany zkratk a s touto pomůckou četl text. Zároveň jsem se snažil si představit, jak by vypadala určitá signalizační dráha nebo vztahy, do nichž konkrétní zkratka zapadá.

Použité metody jsou moderní, náročné a odpovídající řešené tematice.

Výsledky jsou prezentovány na 30 stranách. Autorka se snaží vměstnat (podle mne to není nutné) v některých případech na 1 stránku několik grafů a obrázků (např. str. 52, 53). Užitečná zobrazení jsou pak z toho důvodu prezentována formou sotva rozlišitelných miniatur. O kvalitě a přínosu předložené disertace není pochyb, proto nebylo třeba šetřit místem a sdělení příliš zhuštit. Naopak velmi pěkné a instruktivní jsou morfologické a imunocytochemické obrázky.

K popisu obrázků a grafů v této části: Je obvyklé zařadit do popisu dostatečné údaje, aby byl graf plně srozumitelný bez pátrání v okolním textu (např. použité koncentrace). Název tabulky je zvykem umístit nad tabulku.

Diskuse (6 stran) je přiměřená a zabývá se interpretací vlastních výsledků a konfrontací s výsledky jiných autorů tak jak se očekává.

Přehled citací v závěru práce obsahuje asi 120 položek většinou aktuální literatury, abecedně seřazených a s úplnými citacemi. Ke způsobu citování nemám výhrady.

Závěr práce shrnuje nejvýznamnější výsledky a z této části je zřejmé, že práce významně posunula dosavadní znalosti. Zejména zdůrazňuji poslední bod této části, že narušení signální dráhy TGF- $\beta$ 1 představuje potenciální strategii pro léčbu fibrózy s tím, že růstový faktor fibroblastů FGF-1 by mohl antagonizovat signály iniciované TGF- $\beta$ 1 a tím ovlivňovat progresi jaterní fibrózy.

Součástí disertace jsou 2 publikace již vydané, v jedné z nich je doktorandka 1. autorkou, v další je 2. autorkou (časopis Physiol. Res., aktuální IF 1,64), a dále třetí publikace již přijatá do tisku (Acta Medica, IF asi 1,0).

Doktorandka tedy splňuje publikační požadavky pro obhajobu a získání titulu PhD.

Dotazy:

- Uvádí se (v této práci i v jiných textech), že funkcí jaterních hvězdicových buněk ve zdravých játrech je skladování vitamínu A. Při mnohostranné funkci jater je tato monotematicnost úkolu této buňky až překvapivá. Je pro to v literatuře uváděno nějaké zdůvodnění?
- Co obsahuje Cell Proliferation Reagent WST-1 (str. 42). Bylo přidáno konkrétní přesné množství?
- V jakých jednotkách je vyjádřena genová exprese v grafech 1 – 3 ?
- Grafy v části 6.1.5 (str. 50) jsou zřejmě správně hodnoceny tak, že FGF nemá na proliferaci myofibroblastů vliv. Je nějaké vysvětlení pro pravděpodobně nevýznamné, ale v grafech patrné kolísání nahoru-dolů v čase?
- Na str. 54 se popisuje blokáce receptoru pro TGF- $\beta$ 1. V jaké koncentraci byl inhibitor použit (např. tak, aby blokáce byla 100%?)
- Statistická analýza je popsána na str. 42. Jako neoborník na statistiku se ptám, zda z použité metody vyplývá v grafech vyjádření odchylek znázorněných úsečkami (směrodatná odchylka, nejistota,...)?

Páce splňuje obsahově včetně získaných výsledků požadavky na kvalifikační práci pro získání hodnosti PhD a doporučuji ji k obhajobě.

Na Chloumku u Hořic 15. ledna 2017



Prof. MUDr. Jaroslav Dršata, CSc.

oponent