

Oponentský posudek

disertační práce PharmDr. Dalibora Černého nazvané "Studium nitrobuněčných signálních molekul oxidu uhelnatého a oxidu dusnatého v hepatocytech v souvislosti s hepatotoxickými a hepatoprotektivními účinky vybraných látek".

Tématem předkládané disertační práce jsou experimentální studie zaměřené na studium účinků experimentálních hepatoprotektiv ve vztahu k biologickým systémům zodpovědným za tvorbu plyných biomolekul (oxidu uhelnatého a oxidu dusnatého) v organismu. Jedná se o téma vysoce aktuální, nejen z pohledu zkoumané problematiky, ale i pro potenciální klinický význam s možnostmi přímého využití výstupů v klinické medicíně.

Předložená disertační práce má 115 stran a je členěna do devíti základních kapitol, závěrečnou část pak tvoří přílohy sestavené z publikovaných prací kandidáta. Úvod do problematiky čítá 26 stran, je podložen značným počtem literárních pramenů a poukazuje na přehled autora v dané problematice. V kapitole Cíle práce shrnuje Dr. Černý hlavní úkoly Disertační práce, Metodická část pak popisuje použité metody včetně sofistikovaného systému jaterního bioreaktoru a dokládá, že autor musel během svého studia zvládnout velké množství experimentálních i laboratorních technik. Ve Výsledkové části pak autor detailním způsobem popisuje dosažené výsledky, které jsou doloženy celou řadou grafů, obrázků a fotografií. Výsledky, ačkoli ještě ne zcela konkluzivní, poukazují mechanismy, kterými zkoumaná hepatoprotektiva mohou účinkovat. Za nejcennější lze považovat fakt, že výsledky byly publikovány celkem ve čtyřech oponovaných časopisech s kumulativním impakt faktorem 10,5; na dvou pracích je kandidát prvním autorem.

Celkově práci hodnotím pozitivně, nicméně v ní vidím několik nedostatků, a to jak formálních tak věcných, které zbytečně snižují kvalitu práce.

- 1) Z abstraktu nelze poznat, na jakém modelu byly studie provedeny (in vitro, in vivo?)
- 2) Oxid uhelnatý není sám o sobě radikálem, nelze jej tedy nazývat radikálovým plynem.
- 3) Hemoxygenáza nemá tři izofomy, v minulosti popsáný gen *HMOX3* je pseudogenem.

- 4) V práci byly měřeny aktivity aminotransferáz, nikoli koncentrace či množství, tato chyba se objevuje na mnoha místech. V grafech jsou již uváděny aktivity, ty však mnohdy nejsou v jednotkách SI ($\mu\text{kat/L}$), a pokud jsou, je zkratka mikrokatalů uváděna chybně. Celkově však tyto chyby a nejednotnost značně stěžují orientaci ve výsledcích, kdy například u Obr. 9 je uváděno "Množství ALT" v IU/L (tedy aktivita v jednotkách, které nejsou jednotkami SI), zatímco na Obr. 15 je uváděna "Plazmatická koncentrace ALT" v $\mu\text{cat/L}$ (správně $\mu\text{kat/L}$) – tedy opět aktivita. Je ovšem otázkou, zdali na Obr. 15 jsou skutečně aktivity ALT v $\mu\text{kat/L}$, hodnoty jsou totiž obrovské. Oba obrázky pak může čtenář, který není zkušený v dané problematice, díky těmto chybám a nejednotnosti jen obtížně interpretovat.
- 5) Názvy genů by měly být psány kurzivou.

Otázky na autora:

1. Můžete se vyjádřit k bodu 4 uvedenému výše a týkajícímu se měření aktivit ALT?
2. Silymarin je směs flavonolignanů, z nichž mnohé mají opačné biologické účinky. Tento fakt je také údajným důvodem pro kontroverzní výsledky, se kterými se můžeme setkat v odborné literatuře (viz také Šimánek *et al.* Hepatology 2000). Nedomníváte se, že tato skutečnost (tedy fakt, že nebylo pracováno s jednotlivými biochemickými entitami) mohla ovlivnit Vámi získané výsledky?
3. Předlěčení kurkuminem vedlo u LPS/GaIN modelu k významnému zvýšení plasmatických koncentrací bilirubinu. Tento fakt by mohl být způsoben i potenciálním cholestatickým účinkem. Uvažovali jste i o tomto mechanismu? Snadným průkazem by bylo stanovení konjugovaného bilirubinu, aktivit cholestatických enzymů či hladin žlučových kyselin. Máte tato data k dispozici?

I přes výše uvedené komentáře se jedná o Disertační práci kvalitní, a proto ji doporučuji přijmout jako podklad k obhajobě pro udělení titulu PhD.

v Praze, dne 6.9. 2012

Prof. MUDr. Libor Vítěk, PhD, MBA

IV. interní klinika a

Ústav lékařské biochemie a laboratorní diagnostiky

1. Lékařská fakulta UK v Praze