

Oponentský posudek disertační práce

Student: **Mgr. Alena Prašnická**
Program: Lékařská farmakologie
Škola: Lékařská fakulta Univerzity Karlovy v Hradci Králové
Název práce: Dispozice železa reguluje jaterní homeostázu cholesterolu a žlučových kyselin
Školitel: prof. MUDr. Stanislav Mičuda, Ph.D.

Oponent: **pplk. doc. MUDr. Jaroslav Pejchal, Ph.D. et Ph.D.**
Pracoviště: katedra toxikologie a vojenské farmacie FVZ UO

Jak autorka disertační práce v úvodu předestřela, cílem disertační práce bylo zhodnotit vztah deplece nebo přetížení organismu železem k syntéze, vylučování a celkovému obratu žlučových kyselin. Jedná se o problematiku aktuální, neboť poruchy metabolismu železa patří mezi onemocnění s významnou incidencí ve společnosti. Navíc vztah poruch metabolismu železa k metabolismu a obratu žlučových kyselin nebyl doposud komplexně popsán. Disertační práce vychází z originálních výsledků, jejichž část byla publikována v časopise s IF 5, čímž jsou splněny podmínky Vysokoškolského zákona (111/1998 Sb. § 47 odstavec 4) na obsah disertační práce. Z další části, jak ukazuje příloha práce, je již sepsán manuskript. Autorka disertační práce je navíc spoluautorkou dalších 6 článků s IF (s kumulativním IF 33).

Disertační práce je strukturovaná standardním způsobem. Teoretický úvod v rozsahu 48 stran na jedné straně popisuje žluč, její syntézu, transport žlučových kyselin a jejich regulaci. Na straně druhé metabolismus železa, jeho regulaci a patologické stavy spojené s nedostatkem a nadbytkem tohoto prvku v organismu. Dále jsou jasným způsobem definovány cíle disertační práce. Následuje kapitola popisující metody v rozsahu 11 stran. Zde bych chtěl vyzdvihnout komplexnost metod, které byly pro řešení práce použity. Metody zahrnují biochemickou analýzu, MS, PCR, western bloty, reportérový test, histo- a imunohistochemické metody. Výsledky práce zahrnují 30 stran. Následuje diskuze, ve které jsou na 8 stranách konfrontovány výsledky disertační práce se stavem současného poznání, a závěr.

K některým kapitolám bych však měl drobné výhrady/připomínky: 1) seznam použitých zkratk je neúplný, 2) v sekci metody je: A) velmi nekonzistentní udávání

dodavatelů, kdy státy jsou někdy udávány v angličtině, někdy v češtině. U dodavatelů z USA často chybí stát (např. v práci zmíněná Foster City je dohledatelná ve 3 státech USA). Rovněž by mohlo být jednodušší dodavatele plně definovat při první zmínce a dále již jen názvem firmy, což by mohlo množství nekonzistencí snížit. V některých případech dodavatel výrobku chybí (TRIS, HEPES, KCl, MgCl, EDTA, Sample pufr, str. 70). B) Chyby lze nalézt ojediněle i v jednotkách, např. v jednotce udržovací dávky nmol/l/kg (str. 66) nebo buněčné denzity (str. 72), kdy při nasazování buněk je zpravidla udáván jejich počtem na cm³ (v textu je buněk/cm²). C) v textu jsou konzistentně udávána katalogová čísla genových sad a protilátek. V tabulce 7 však ve 3 případech chybí. 3) ve výsledkové části A) lze grafy 12 a 22 spíše považovat za obrázky než grafy, B) někdy je nekonzistentně změna exprese udávána v %, jindy v relativních číslech a C) vzhledem k použití odlišných statistických testů by možná bylo rovněž vhodné u tabulek i grafů udávat, dle kterého testu byl signifikantní rozdíl nalezen. Pokud bychom hodnotili formální stránku věci, lze ojediněle narazit na gramatické chyby a anglikanismy. Nejvíce autorka disertační práce bojuje s mezerami okolo jednotek, matematických znamének, atd. Avšak i přes tyto nedostatky práci považuji za povedenou a oceňuji zejména čtivost diskuze.

Závěr:

Autor ve své disertační práci **prokázal** schopnost samostatní tvůrčí práce v daném oboru.

Práce **splňuje** požadavky standardně kladené na disertační práce v daném oboru.

V Hradci Králové, dne 7. 8. 2019

.....

podpis

Dotazy k obhajobě:

- 1) Z jakého důvodu bylo pro *in vivo* experimenty s deplecí železa zvoleno 7 zvířat, zatímco pro nadbytek 6?
- 2) Při *in vitro* experimentech byly použity buněčné linie HepaRG a HepG2. Do jaké míry jsou tyto modely podobné? Do jaké odlišné? A do jaké míry jsou vhodné pro simulaci primárních buněčných linií?
- 3) Zaujala mě rovněž volba Newman-Keuls post-hoc testu. Z jakého důvodu byl zvolen?

- 4) V tabulce 8 nejsou u ukazatele ALT a neutrofilů nalezeny významné rozdíly. Průměry skupin se započítáním odchylek mi však připadají relativně vzdálené. Jaké hodnoty p-values byly v obou případech nalezeny?
- 5) Do jaké míry je možné na základě získaných výsledků v případě indukce deficitu železa *in vivo* vyloučit vliv JNK signální dráhy na regulaci *Cyp7a1*?
- 6) Do jaké míry je možné společně interpretovat výsledky 17B, 18B a 23A vzhledem k tomu, že jejich měření probíhalo v podstatě v odlišných časových rámcích experimentu?