

Posudek doktorské disertační práce
MUDr. Lyudmily Kantchevy
„Neuroactive Steroids – Physiology and Patophysiology“

Studium biosyntézy, metabolických přeměn a aktivit steroidů v orgánech, jež nejsou řazeny mezi klasické endokrinní žlázy, patří mezi významné trendy současné endokrinologie vedoucí k lepšímu chápání účinků steroidních hormonů na úrovni jednotlivých orgánů a tkání a jejich úlohy při udržování homeostázy i jejich podílu na patologických stavech. Mozek a nervová tkáň zaujímají v této problematice výlučné postavení. To je dáno jednak existencí hematoencefalické bariéry, jež zásadně omezuje výměnu řady látek včetně steroidů mezi tkání a krevním řečištěm, jednak omezenou dostupností experimentálního materiálu. Proto studium metabolismu a aktivity steroidů v nervovém systému kladou značné nároky na parametry použitých analytických metod i na matematické postupy pro zpracování získaných dat.

Disertační práce Mudr Lyudmily Kantchevy „Neuroactive Steroids – Physiology and Patophysiology“ představuje nezanedbatelný přínos disertantky na tomto poli.

Práce je sestavena z vlastního textu o rozsahu 75 stran (včetně seznamu literatury) a přiloženého souboru deseti původních publikací v kvalitních mezinárodních časopisech, (z toho jednou první autor). Práce je sepsána v anglickém jazyce, na velmi dobré jazykové úrovni a téměř bez překlepů, což ji činí přístupnou širokému okruhu čtenářů.

Disertace je členěna do následujících oddílů:

1. Introduction (teoretická část)
2. Scope and Aims (cíle práce)
3. Materials and Methods
4. Results
5. Discussion
6. Conclusions
7. References
8. Supplements

Ad.1 Teoretická část začíná přehledem poznatků o roli pregnanových steroidů v modulaci neuronálních funkcí prostřednictvím modulace GABA a NMDA receptorů a T kalciových kanálů a možných fyziologických dopadech těchto aktivit. Tato oblast je dále rozvedena pro význam neuroaktivních steroidů při některých fyziologických a patologických stavech, jmenovitě při stresu, poprodu a poporodním období, epilepsii a alkoholismu.

Ad. 2. Jako první cíl práce si disertantka vytknula vývoj metodologie pro paralelní stanovení co největšího počtu steroidů v jednom vzorku; analyzovaným materiálem byly krevní sérum a mozkomíšni mok. Vyvinuté metody pak aplikovala na studium steroidního metabolismu při epilepsii, alkoholismu, těhotenství, porodu a poporodním období, a na studium vztahů mezi koncentracemi jednotlivých steroidů v periférii a v CNS.

Ad. 3. Kapitola „Materials and Methods“ je přehledná a odpovídajícím způsobem prezentuje základní údaje o použitých chemikáliích, instrumentálním vybavení a laboratorních technikách, v neposlední řadě pak i charakterizuje původ klinických materiálů.

Ad. 4 a 5. Obsáhlá výsledková část se věnuje charakterizaci vyvinutých původních analytických metod, založených na plynové chromatografii s detekcí hmotnostním spektrometrem, které předcházely sofistikované extrakční a derivatizační postupy. O

náročnosti metod i o péči, se kterou disertantka a její spolupracovníci ke své práci přistupovali, svědčí důsledné používání izotopově značených vnitřních standardů i fakt, že nakonec dosáhli paralelního stanovení až 36 látek v jednom běhu, včetně těžko dělitelných isomerů (např. rozdíl retenčních časů isopregnanolonu a epipregnanolonu byl cca 1 sec.) a citlivosti vesměs v subpikogramovém řádu. Nemenším úkolem bylo pak statistické zpracování množství jednotlivých dat a jejich interpretace. O významu získaných poznatků svědčí počet a kvalita publikací na nich založených. Publikace jsou samozřejmě dílem týmu (v tomto případě špičkového, vedeného Ing. M. Hillem, DrSc.), složeného z nositelů řady odborností. Kvalitou zpracování přehledu výsledků a navazující diskuse disertantka prokázala svoje aktivní postavení v tomto týmu i schopnost samostatné vědecké práce.

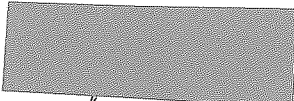
V diskusi bych rád položil disertantce následující otázky:

1. Myslíte si, že je možné na základě vámi získaných dat usuzovat na terapeutický potenciál neurosteroidů např. při epilepsii, alkoholismu a dalších stavech? Které látky by nejspíše mohly být vhodnými kandidáty na léčiva?
2. V diskusi metabolických přeměn steroidů na str. 62 uvádíte allopregnanolon jako možný prekursor isopregnanolonu, zatímco ve schématu na str. 10 (Fig. 1) se předpokládá jejich původ ze společného prekursoru, 5α dihydroprogesteronu. Můžete vysvětlit tento rozpor?
3. Vzhledem k významu sulfatace na účinky neurosteroidů, dá se v této oblasti předpokládat terapeutické využití modulátorů sulfatace (např. inhibitorů sulfotransferas nebo sulfatas). Mohou se v této oblasti nějak projevit přírodní inhibitory sulfatas, např. ze skupiny polyfenolů?

Závěr:

Disertační práce MUDr. Lyudmily Kantchevy je na vysoké odborné úrovni a její autorka plně prokázala, že je schopna jak zapojení do špičkového vědeckého týmu, tak samostatné vědecké práce. Doporučuji proto, aby její práce byla komisí pro obhajoby přijata k obhajobě a autorce udělena vědecká hodnost doktor.

V Praze 24.5.2010



prof. Dr. RNDr. Oldřich Lapčík
Ústav chemie přírodních látek
Fakulta potravinářské a biochemické technologie
Vysoká škola chemicko-technologická v Praze
Technická 5
166 28 Praha 6