

Oponentský posudek doktorské disertační práce Mgr. Pavlína Haškové:

### **Studium patobiochemie katecholaminové kardiotoxicity: Role volných iontů železa a jejich chelatace jako možnosti farmakologické kardioprotekce**

Cílem této disertační práce bylo vytvořit nejprve vhodné experimentální modely pro studium spontánní oxidace katecholaminů v roztoku tak, aby bylo možno hodnotit vznik oxidačních produktů a jejich redoxních vlastností a vytvořit experimentální buněčné modely pro studium katecholaminové toxicity in vitro v čase a na molekulární úrovni. Pomocí těchto modelů pak studovat roli volných iontů železa patobiochemii katecholaminové kardiotoxicity a hodnotit možnosti kardioprotekce pomocí chelatace železa vybranými látkami buď experimentálními, nebo existujícími již jako léčiva.

Písemný elaborát je zpracován a členěn standardním způsobem. Z jednotlivých částí představuje popis současného stavu řešené problematiky asi 40 stran, popis použitých materiálů a metodik cca 10 stran, výsledky jsou uvedeny na 30 stranách, diskuse má rozsah 12 stran. Seznam použité literatury má cca 120 položek.

Použité metody představují pestrou paletu dnes již klasických metod biochemie, jako je spektrofotometrie, HPLC, fluorimetrie, enzymové, luminometrické stanovení a dále metod biologických, jakými jsou kultivace buněk, jejich histologické barvení a mikroskopické hodnocení.

Práce je sepsána srozumitelným a přehledným způsobem, na velmi dobré stylistické úrovni.

Z výsledků práce vyplývá, že v kardiotoxicitě navozené katecholaminy hraje roli oxidační poškození myocytů, do něhož jsou zapojeny právě produkty oxidace katecholaminů. Výsledky potvrdily dále představu, že intracelulární železo ve volné a redoxně aktivní formě hraje v tomto procesu významnou úlohu tím, že se katalyticky podílí jak na vlastní oxidaci katecholaminů, tak na toxicitě vzniklých oxidačních produktů.

Účinným nástrojem v ochraně myocytů se proto jeví i podle výsledků předložené práce chelatace železa v obou výše uvedených směrech účasti železa na oxidačním poškození srdečních buněk. Z tohoto důvodu se jeví vývoj nových chelátorů železa jako velmi perspektivní směr. Tyto chelátory by si měly zachovat pozitivní vlastnosti klasických chelátorů a mít omezené nežádoucí účinky. Autorka vidí perspektivu v dalším rozvoji tzv. prochelátorů, tj. látek, které by se aktivovaly in vivo na účinné chelátory. Celou práci vidím

jako velmi přínosnou jak z hlediska přípravy doktorandky na případnou budoucí experimentální práci v příbuzných oborech (biochemie, toxikologie, farmakologie) i z hlediska získaných výsledků.

K práci nemám zásadní výhrady.

Připomínky a dotazy:

Přehled současného stavu problematiky je velmi čtivý. Údaje čtenáři vhodně pomáhají k orientaci v řešené problematice, domnívám se však, že údaje o katecholaminech, většinou známé od 50.-70. let minulého století, by si možná zasloužily původnější citaci, než poměrně nedávné přehledy.

Podobně SIH: syntéza 1953, chelatační účinky v 70. letech min.stol.,citace 2006.

Nevím, zda jsem nepřehlédl originální citace o syntéze studovaných chelátorů, v práci by měly být uvedeny.

Str. 102: Je SIH skutečně součástí skupiny pyridoxalisonikotinoylhydrazonových analogů?

Popis oxidačního stresu je na úrovni učebnic a přehledů. Celý text je napsán kvalitně, chyby a překlepy jsou zcela ojedinělé. Text je pod zřetelným vlivem angličtiny, hlavním důvodem jsou pravděpodobně anglické zdroje literatury a dalších informací.

Příklady: Katecholaminy-navozené poškození, Fe-navozená peroxidace, atd. Raději ferochelatační než železochelatační? Dvouslovné názvosloví enzymů, nebo s použitím spojovníku (glutathion-peroxidáza, hydrogenperoxid-oxidoreduktáza). Str. 20: Lysozómy

Nabízí se myšlenka, zda by nebylo lepší psát biochemické disertace rovnou v angličtině, čímž bychom se zároveň vyhnuli těžko řešitelnému spojení českého klasického pravopisu chemického názvosloví s progresivním pravopisem textu, dokonce někdy i v jednom slově (opět příklad glutathion-peroxidázy). Tento názor podporuje fakt, že všechny publikace, na nichž se doktorandka podílí, jsou v angličtině.

K cílům práce (str. 54), body 1 a 2: Bylo úkolem experimentální modely vytvořit, nebo modifikovat a zavést na základě existujících metod?

K vlastní experimentální práci:

Obr. 5.1. u jednotlivých profilů: proti čemu byly měřeny?

Byl SIH vždy v roztoku? Jaké zkušenosti měla autorka s jeho rozpouštěním?

K diskusi: Diskuse je velmi kvalitní. Navíc zde čtenář nachází užitečné informace, které by mohly být i úvodní v části, popisující současný stav problematiky.

Dotaz ke str. 104: Nedostatečná patentová ochrana činí SIH neatraktivní pro farmaceutický průmysl. Je to tak jednoznačné (viz kyselina acetylsalicylová...)?

Na základě výsledků předložené disertace nebo v souvislosti s ní vzniklo 12 časopiseckých publikací *in extenso* a 7 abstraktů z konferencí. V základní publikaci je Mgr. Hašková první autorkou, stejně tak v publikaci, která je v recenzním řízení. Všechny publikace jsou v impaktovaných časopisech, většina s vysokým IF kolem 3-4.

Celkové hodnocení: Práce splňuje požadavky kladené na doktorskou disertaci a doporučuji ji jako podklad pro obhajobu.

Na Chloumku 9.září 2011

Prof.MUDr. Jaroslav Dršata CSc.  
oponent