

OPONENTSKÝ POSUDEK

„Activity of antioxidant enzymes in different pathophysiological states.“

(Disertační práce Mgr Lucie Vávrové)

Disertační práce „Activity of antioxidant enzymes in different pathophysiological states.“ Mgr Vávrové zapadá svým obsahem do mohutného proudu současného biochemického úsilí odhalit a charakterisovat úlohu volných radikálů a reaktivních species za normálních a patofisiologických stavů na molekulární, subcelulární, buněčné úrovni i na úrovni celého organismu a specifikovat složky antioxidační ochrany s cílem využití jejího potenciálu pro zachování fysiologické volně radikálové situace.

Mgr Vávrová se zaměřila především na studium aktivity antioxidačních enzymů – Cu,Zn-superoxiddismutasy /Cu,ZnSOD, EC 1.15.1.1/, katalasy /EC 1.11.1.6/ v lysovaných erytrocytech a na studium arylesterasové aktivity paraoxonasy /arylesterasa EC 3.1.1.2/ , paraoxonasové aktivity paraoxonasy /aryldialkylfosfatasa EC 3.1.8.1/ a laktonasové aktivity paraoxonasy v lidských sérech kinetickými spektrofotometrickými metodami.

Kromě sledování změn aktivit uvedených enzymů autorka monitorovala rovněž markery oxidačního stresu - konjugované dieny v precipitovaných LDL, oxidované LDL a nitrotyrosin, což dává práci širší rozměr.

Experimentální části předchází úvod, v němž je trefně rozebrána historie, struktura, funkce a možnosti stanovení tří studovaných antioxidačních enzymů. Úvod přináší hluboký čtenářsko-vědecký požitek.

Autorka studovala aktivitu antioxidačních enzymů u skupin pacientů s různými patofisiologickými stavů: metabolický syndrom, depresivní poruchy, šepse, akutní a chronická pankreatitida, karcinom pankreatu. S vyjímkou skupiny „Akutní pankreatitida“ skupiny zahrnovaly několik desítek nemocných, což je nutno vyzdvihnout zvláště u skupiny „Sepse“. Charakterisace jednotlivých skupin je vzorová, výsledky srovnávány s adekvátní skupinou zdravých osob. V některých skupinách byly provedeny i další biochemické analýsy.

Všechny použité metody byly adekvátní a moderní.

Zvýšená aktivita Cu,ZnSOD byla zaznamenána ve skupinách pacientů s metabolickým syndromem, depresivními poruchami, karcinomem pankreatu a sepsí. Snížená aktivita katalasy byla prokázána ve skupině pacientů s metabolickým syndromem, sepsí a karcinomem pankreatu. Podotýkám, že v případě poslední skupiny, pokles katalasy je v souladu s poklesem obsahu katalasy a dalších antioxidačních enzymů *in situ* na tkáňové úrovni. U všech sledovaných patofysiologických stavů (až na skupiny depresí) byly demonstrovány nižší aktivity paraoxonasy 1 oproti kontrolám. Autorka vyzdvihuje, že různé aktivity paraoxonasy 1 spolu korelovaly.

Hladiny markerů oxidačního stresu byly zvýšeny ve všech studovaných skupinách oproti kontrolám. Tato informace překvapivě chybí v oddíle Conclusions (str.48) i v abstraktech (str.6,7). Doporučoval bych do oddílu Výsledky v abstraktech informaci o zvýšení hladin markerů oxidačního stresu doplnit, protože jinak jediná věty oddílu Závěry v abstraktech ztrácí logickou souvislost.

Výsledky jsou důsledně a příkladně porovnávány s výsledky jiných autorů, což svědčí o širokém literárním rozhledu Mgr Vávrové.

Patobiochemickému zamýšlení nad výsledky není v práci věnován širší prostor, ale lze jej nalézt v přílohách, zejména v příloze č. 6.

Stinné glosy: 1) Jak už to bývá u vědeckých výstupů z klinických pracovišť, je práce zamořena obrovským množstvím zkratek, které jsou z větší části dešifrovány v přehledu na str.8, ale některé zkratky v přehledu chybí, např. U – str.29 a dále, HDL-C - str.32, NS – vysvětleno jen v legendě obr.7 a 8, a S1, S7, R7 – str.34. 2) Autorka nedbá doporučení IFCC a IUPAC (např. IUPAC Technical Report viz *Pure Appl Chem.* 73(6): 927-931, 2001) a namísto doporučované jednotky katal používá mezinárodní jednotku pro enzymovou aktivitu, která neodpovídá SI soustavě. Nutno však dodat, že této neřesti propadají i některé mezinárodní časopisy.

Technické parametry: Předložena disertační práce je svázaná do tvrdých desek. Vlastní práce zabírá 70 stran včetně 173 citací. Je dále doplněna suplementem 6 publikovaných prací a 1 prací zaslанou do tisku.

Práce je sepsána pozoruhodně kompaktně v dobré angličtině s nízkým výskytem překlepů (str.42,46,49,53). Přílohy umožňují hlubší vnor. O velmi dobré jakosti thesí svědčí i 8 publikovaných prací s kumulativním IF=11,931, z nichž některé jsou součástí svazku.

Dotazy:

- 1) Paraoxonasa , tajuplný enzym s 3 zřetelnými aktivitami, je řazen do skupiny hydrolas, avšak díky peroxidase-like aktivitě může být chápán jako antioxidační enzym. Jedním ze závěrů práce je , že různé typy aktivity paraoxonasy 1 ve zkoumaných vzorcích spolu korélují. Zajímalo by mne; zda autorka má pro tento fenomen nějaké biochemické vysvětlení?
- 2) Ve svazku je opakován užit termín lysosomální katalasa. V příloze 6, str.428 se např. píše o rozkladu peroxidu vodíku katalasou v lysosomech. Zajímal(y) by mne primární zdroj(e) této informace.

S odvoláním na svrchu provedený rozbor předložených doktorských thesí konstatuji, že recensovaná práce přes dílčí výtky je znamenitá a jednoznačně prokazuje předpoklady Mgr Lucie Vávrové k samostatné tvořivé vědecké práci, a tím i k udělení titulu Ph.D. za jménem. Proto doporučuji dále konat v tomto smyslu.



Prof MUDr Jan Borovanský, CSc, FTI

Ústav biochemie a experimentální onkologie 1-LF UK

U nemocnice 5

128 53 Praha 2

13.9. 2013