

Posudek disertační práce doktorského studijního programu „Ovlivnění aktivace krevních destiček polyfenolickými látkami a jejich metabolity“ vypracované Mgr. Lenkou Applovou, doktorandkou Katedry farmakologie a toxikologie Farmaceutické fakulty University Karlovy v Hradci Králové

Cílem práce, vypracované pod vedením školitele doc. PharmDr. Přemysla Mladěny, Ph.D., je posouzení významu řady polyfenolů a jejich metabolitů na primární destičkovou hemostázu. Ověřován byl efekt na aktivaci, degranulaci a agregaci trombocytů. Práce vycházela z epidemiologických dat dokládajících nepřímý vztah mezi příjmem polyfenolů, zejm. flavonoidů a výskytem aterotrombotických příhod. Sledování biologických funkcí polyfenolů má na pracovišti skupiny Kardiovaskulární a respirační farmakologie a toxikologie dlouholetou tradici a výborné laboratorní zázemí.

Autorka stanovovala antiagregační potenciál v plné krvi pomocí moderního agregometru Multiplate. Tato technika daleko lépe odpovídá fyziologickým poměrům lidské hemostázy, než techniky užívané ve starších pracích na podobné téma. Testováno bylo několik desítek přirozeně se vyskytujících polyfenolů a jejich metabolitů a několik nově syntetizovaných molekul. Při hledání mechanismu protideštičkového účinku jednotlivých biologicky účinných polyfenolů byly stanovovány koncentrace hemostaticky účinných působků (např. TXA₂, serotoninu) technikou ELISA.

Cílů práce bylo, dle autorky, několik. Primárním bylo hledání vztahu mezi příjmem polyfenolů, zejm. flavonoidů a výskytem kardiovaskulárních onemocnění. Jistě, byl nalezeno jedno z plausibilních vysvětlení příznivého působení těchto látek, tj. protideštičkový účinek při působení v laboratorních podmínkách. Tento velmi ambiciózní cíl byl splněn jen částečně, nalezeno jen jedno z možných vysvětlení.

Druhým cílem bylo nalezení perspektivní molekuly, která by mohla být v další fázi testována jako možné léčivo s protideštičkovým účinkem. Tento rovněž ambiciózní cíl byl splněn, bylo vytipováno hned několik perspektivních polyfenolů a jejich metabolitů. Již tento fakt by stačil k úspěšnosti práce.

Třetím dílčím cílem bylo stanovení vztahu struktury polyfenolu k biologickému účinku, tj. protideštičkovému efektu. Ve skupině isoflavonoidů byl potvrzen již starší nálezy jiných autorů, že rozhodující je přítomnost skupiny 7,4'-dihydroxy. Na větším počtu molekul a jejich metabolitů byl vztah v předložené práci potvrzen. Odstranění hydroxylové skupiny či substituce vedla ke ztrátě biologického účinku. Navíc práce doplnila poznání, že přidání některých skupin v dalších pozicích protideštičkový efekt zvýšilo. Jistým překvapením je, že protideštičkový efekt je dán působením některých polyfenolů na úrovni inhibice COX-1 a jiných blokadou tromboxan/prostaglandinového receptoru beta.

Vlastní práce má 136 stran odborného textu, 162 citací a 4 přílohy odborných vědeckých publikací týkajících se vlastního tématu již publikovaných a jednu publikaci přijatou v recenzním řízení k otištění. Ve dvou sděleních je autorka hlavním autorem, ve dvou spoluautorkou. V práci, která je v tisku, je autorkou prvou. Její IF je pro rok 2018/2019 4,653.

Sumární IF prací již publikovaných je 17,7. Impact factor prací, v nichž je doktorandka uvedena jako hlavní autorka, je 10,5. Stylisticky i odborně je práce dobře napsaná, drobných chyb je málo. Dobře je koncipována a zvládnuta též diskuzní část práce.

Vlastní práce je aktuální, testování biologického účinku polyfenolů se nepochybně v budoucnu rozšíří. Metodika použitá v práci je moderní a doktorandka aktivně práci s ní zvládla. Z pohledu významu práce je nutno konstatovat, že obdobně, jako řada jiných prací z mateřského pracoviště, bude mít dopad na klinickou praxi. Bylo by žádoucí, aby doktorandka mohla ve své práci pokračovat.

K doktorandce mám dvě otázky:

Reparační pochody v organizmu, ke kterým i hemostáza patří, mají často propojen účinek hemostatický a proliferančně- reparační (zánětlivý). Jak je tomu v případě polyfenolů? Mají i další biologické funkce?

Je známo zda se na biologickém efektu mikronizované frakce flavonoidů (diosmin/hesperidin) účastní též protidestičkový účinek?

Závěrem konstatuji, že autorka dizertační práce Mgr. Lenka Applová prokázala schopnost samostatné vědecké práce a splnila podmínky pro udělení titulu Ph.D. za jménem. Doporučuji udělení tohoto titulu.

V Praze 28. 8. 2019

Prof. MUDr. Jan Bultas, CSc.

přednosta Ústavu farmakologie 3. LF UK Praha