

**OPONENTSKÝ POSUDEK**  
**disertační práce Mgr. Ivy BOUŠOVÉ**

**Natural compounds with potential antioxidant activity: *in vitro* study in a model of protein glycoxidation**

Předkládaná disertační práce je souborem pěti komentovaných publikací, z nichž tři vznikly ve spolupráci se zahraničními pracovišti (Chorvatsko, Francie, Itálie) v rámci výměnných programů (CEEPUS, Erasmus). Práce byly podpořeny několika granty udělovanými MŠMT a GAUK. Doktorandka je uvedena jako první autorka u tří prací. Publikace byly otištěny vesměs v časopisech s IF.

Práce má 115 stran a je dělená na úvodní část, cíle práce, komentované výsledky s diskusí, závěr, literární odkazy k úvodní části a na přílohu obsahující články *in extenso*. Úvodní část (38 stran) je rozdělena do tří oddílů zabývajících se 1) vznikem oxidačního stresu, 2) látkami zapojenými do ochrany buněk před účinky reaktivních forem kyslíku a dusíku (RONS) a 3) problematikou neenzymové glykace a vzniku pozdních konečných produktů (AGE). Autorka prokázala, že dané složité problematice rozumí. Podařilo se jí stručně, ale výstižně charakterizovat vznik RONS, jejich ambivalentní povahu, roli při poškozování buněk a v kostce popsat vybraná onemocnění, na jejichž vzniku či rozvoji se oxidační stres podílí. V druhé části úvodu předkládá přehled látek s antioxidantními účinky. S ohledem na téma práce větší pozornost věnuje skupině rostlinných polyfenolů, z nichž některé testovala. Ve třetí části je přehledně podána informace o neenzymové glykaci, jejích stupních až ke vzniku AGE včetně léčebné intervence a přehledu analytických metod stanovení. Literární přehled je dokumentován více než 200 citacemi; uvedeny jsou jak práce pro danou problematiku základní, tak je zde množství recentních odkazů.

Komentář k výsledkové části je vždy uveden citací práce, ke které se váže, a shrnuje slovně dosažené výsledky. Kompletní článek pak čtenář najde v příloze. Výsledková část je logicky řazena s ohledem na jednotlivé cíle práce. Autorka nejprve seznamuje s testováním a výběrem nejvhodnějšího komerčního kitu pro stanovení aktivity AST pro následné pokusy *in vitro*. V další práci se zabývala výběrem a zavedením fluorescenční metody pro sledování množství AGEs a pentosidinu po přidání D-fruitosy jako glykačního činidla. Na tomto modelu pak testovala vybrané přírodní flavonoidy, což je jedním z přínosných výsledků disertace. To, že některé testované antioxidanty vykazovaly antioxidantní účinky, jiné byly prooxidanti a některé byly bez efektu, není až tak překvapivé. Účinky antioxidantních látek jsou do značné míry závislé na mechanismu účinku, na jejich interakci s makromolekulami a vlivu prostředí. V další části práce se autorka naopak zabývala látkou, která se v organismu vyskytuje přirozeně, a to kyselinou močovou. Výsledky ukazují na její jistou antioxidantní aktivitu. Poslední komentovaná práce se poněkud vymyká. Jedná se o vyšetření plasmy pacientů s diagnosami reumatických onemocnění. Sledována byla celková antioxidantní aktivita, jednak hydroperoxydy jako produkty lipoperoxidace a SH- a karbonylové skupiny jako měřítko oxidace bílkovin. Hlavní přínos této části práce vidím v tom, že si autorka osvojila další metody, které pak bude moci využít v další práci týkající se ovlivnění tvorby AGE.

Z výsledků je patrné, že Mgr. Boušová zvládla řadu metodik a vypracovala model, na kterém by se mohly *in vitro* testovat různé další antioxidantní látky a sledovat jejich vliv na tvorbu AGEs a samozřejmě tím i na katalytickou aktivitu AST. To ověřila na sledování vlivu



vybraných přírodních látek ze skupiny flavonoidů. Práce je psána přehledně, srozumitelně a prakticky bez chyb.

K autorce má následující dotazy:

- 1) Jak se projevilo podání oxidovaných forem Fe a Cu na tvorbě AGEs a katalytické aktivitě AST a jak si efekt vysvětlujete?
- 2) V čem vidíte přínos zavedení sledování koncentrace SH- a karbonylových skupin pro sledování glykoxidace?

Závěr:

Předkládaná práce Mgr. Ivy Boušové je na velmi dobré úrovni a splňuje požadavky kladené na disertační práci. Doporučuji ji proto přijmout a uchazečce po splnění zákonných náležitostí udělit titul Ph.D.

28.9. 2006

  
doc. MUDr. Alena Stoklasová, CS.  
Ústav lékařské biochemie  
UK-LFHK

