

Oponentský posudek

doktorské disertační práce Mgr. Ivy Boušové

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

Oponovaná disertace byla vypracována na katedře biochemických věd Farmaceutické fakulty UK v Hradci Králové a částečně též na Katedře humánní fyziologie a farmakologie na Univerzitě v Římě, jako kvalifikační práce k získání titulu PhD. Zabývá se studiem několika antioxidantů přírodního původu a sleduje jejich antiglykační aktivitu na modelu aspartátaminotransferasy (AST) *in vitro*. Jako enzymu bylo použito komerční purifikované AST prasečího srdce a jako glykační agens byla použita nejprve D-fruktóza a později methylglyoxal. Cílem práce bylo, kromě otázek metodických, testovat antiglykační aktivitu přírodních látek. Významná antiglykanční aktivita byla zaznamenána u kyseliny močové, o-kumarové a hydroxycitronové, aniž by tato kyseliny významným způsobem ovlivňovaly enzymovou aktivitu AST. Naopak bajkalin, rostlinný flavonoid ze *Scutellaria baicalensis*, stejně jako jeho aglykon bajkalein nebo methylarbutin, nevykazovaly antiglykační aktivitu, ale inhibovaly aktivitu AST.

Práce je příspěvkem k objasnění závažného problému neenzymové glykosylace bílkovin, která je základem mnoha chorobných procesů, jako je např. diabetes, Alzheimerova nemoc apod. Glykaci podléhá řada tkáňových a plazmatických proteinů. Podle současných znalostí neenzymová glykace dlouhodobě žijících proteinů způsobuje změny v buněčných membránách, které postupně vedou k postižení mnoha orgánů a jsou pravděpodobně významným principem stárnutí. Z výsledků práce vyplynulo, že AST je vzhledem ke svým vlastnostem vhodným modelem pro studie ovlivnění bílkovin glykacemi a testování látek ovlivňujících tyto děje *in vitro*, avšak *in vivo* bylo již dříve prokázáno, že inhibice aminotransferas mechanismem glykace není pravděpodobně patofyziologicky významná. To poněkud snižuje význam zvoleného modelu.

Disertační práce má 115 stran a sestává z literárního přehledu, experimentální části, výsledků, diskuse a závěrů. Je doplněna seznamem použité literatury a přílohami. Literární úvod dává dobrý přehled současného stavu autorkou studované problematiky. Poskytuje stručné informace o oxidativním stresu, reaktivních formách kyslíku a dusíku a jak tyto mohou poškozovat lipidy, proteiny a DNA. Dále je krátce pojednáno o nemocech způsobených volnými radikály a to o cukrovce, atheroskleróze a neurodegenerativních onemocněních. Samostatná kapitola je věnována antioxidantně působícím látkám různé struktury a různého původu: vysokomolekulární látky (enzymy, transferrin, lactoferrin, ceruloplasmin apod.) a nízkomolekulární látky (kyselina askorbová, karotenoidy, koenzym Q₁₀, kyselina močová, rostlinné polyfenoly a flavonoidy). Značná pozornost je věnována samotným glykacím bílkovin a metodám, kterými je možno je měřit.

Výsledky práce a jejich diskuse jsou prezentovány formou kopií pěti článků publikovaných v odborném zahraničním tisku (2x J Pharm Biomed Anal, 1x Acta Pharm, 1x Mol Cell Biochem a 1x J Pharm Pharmacol), které jsou v práci vloženy *in extenso* a tvoří část příloh. Kandidátka tak splnila povinnost publikovat nejméně tři

práce ještě před obhajobou své doktorské disertační práce. Kromě toho je každá z uvedených prací krátce diskutována v části Výsledky a diskuse. V práci použité literární prameny, kterých je téměř 250, jsou dobře vybrány s ohledem na řešenou problematiku a nejčerstvější z nich zahrnují i práce publikované v letošním roce.

Oponovaná disertace má vyvážený obsah, bez zjevných formálních či věcných nedostatků. Autorka píše stručně, jasně a srozumitelně. Po vědecké stránce přináší nové výsledky, z nichž mnohé již byly předneseny na konferencích u nás i v zahraničí a publikovány v odborném tisku.

Závěr: Oponovaná práce Mgr. Ivy Boušové splňuje v plném rozsahu požadavky kladené na disertační práci. Má nejen hodnotu jako kvalifikační spis, ale i značný vědecký přínos. Doporučuji ji proto přijmout jako podklad k dalšímu řízení k získání titulu PhD.



Prof. RNDr. Jiří Patočka, DrSc.
Katedra radiologie a toxikologie
Zdravotně sociální fakulta
Jihočeská univerzita
České Budějovice

V Hradci Králové, 25.9.2006