

Oponentský posudek doktorské disertační práce

Mgr. Jana Kodydková

1. lékařská fakulta UK v Praze IV. interní klinika

Předmětem kandidátské disertační práce bylo sledování aktivity antioxidantních enzymů – glutathion peroxidázy (GPX1), glutathion reduktázy (GR) a hladin redukovaného glutathionu (GSH) u nemocí, v jejichž patogenezi se předpokládá účast oxidačního stresu. Cíle práce zahrnovaly měření aktivity těchto enzymů a hladin GSH u pacientů s depresivní poruchou, metabolickým syndromem, v průběhu sepse u septických pacientů, u kriticky nemocných neseptických pacientů, dále pak u pacientů s akutní a chronickou pankreatitidou a rakovinou pankreatu.

Téma kandidátské disertační práce je aktuální nejen z hlediska objasnění úlohy oxidačního stresu v patogenezi těchto onemocnění tak i z hlediska možnosti posouzení závažnosti a prognózy těchto onemocnění.

Práce obsahuje celkem 88 stran textu, včetně seznamu zkratk a literatury a seznamu autorčiných publikací (4 strany). Do práce byly začleněny 2 tabulky a 3 grafy a 7 schemat. Seznam literatury obsahuje 20 stran, což představuje přes 200 citací.

Úvodní část předložené disertační práce (24 stran) je věnována literárnímu přehledu o současném stavu řešené problematiky. Podrobně jsou popsány současné poznatky o příčinách oxidačního stresu, struktuře a funkci glutathionperoxidáz, peroxiredoxinů, glutathion reduktázy a syntéze a funkci redukovaného a oxidovaného glutathionu. Ze zasvěceně napsaného úvodu, dokumentujícího detailní znalost sledované problematiky, se odvíjejí cíle provedených studií.

Cíle disertace jsou jasně formulované a byly zaměřeny na sledování aktivity vybraných antioxidantních enzymů a glutathionu u výše zmíněných onemocnění.

Použité a detailně popsané **metodické postupy** vycházejí z dlouhodobých zkušeností pracoviště s vysokou odbornou úrovní, umožnily provedení analýz u širokého spektra skupin pacientů. Oceňuji přehlednou tabulku, ve které jsou uvedeny základní charakteristiky a kriteria výběru pacientů, včetně referencí autorčiných publikací. Počet pacientů v jednotlivých sledovaných skupinách byl dostatečný, každý typ onemocnění měl dobře vybranou kontrolní skupinu pacientů. Výběr náročných analytických biochemických metod, matematický výpočet korelací a statistické hodnocení získaných výsledků byly vhodně zvolené pro řešení studované problematiky.

Dosažené **výsledky** (9 stran), které popisují data uveřejněná v publikacích, jsou členěny podle typu sledovaných onemocnění a jsou presentovány formou textu, 1 tabulky a 3 grafů. Zajímavým nálezem jsou výrazně snížené hladiny redukovaného glutathionu v erytrocytech u

všech sledovaných patofyziologických stavů, s výjimkou akutní pankreatitidy, kde pokles nedosáhl statistické významnosti. Podobný pokles autorka zjistila u aktivity glutathion peroxidázy s výjimkou metabolického syndromu. Pro účast oxidačního stresu v patogenezi sepse a kriticky nemocných pacientů bez sepse svědčí i zvýšené hladiny oxidovaných lipoproteinů a konjugovaných dienu. S tím souvisí pravděpodobně i zjištěné snížené hladiny vitamínu E, A a selenu.

V **diskuzi** (9 stran) podává autorka zasvěcený komentář k získaným výsledkům, který svědčí o dobré znalosti problematiky. Je třeba ocenit, že autorka zdůrazňuje komplexnost oxidačního stresu, což souvisí nejen s obtížemi při analýze, ale i s vyhodnocením získaných údajů.

Součástí práce je pět **příloh**, ve kterých byly publikovány získané výsledky a jedna příloha odeslaná do tisku. Ve dvou publikacích v časopisech s impakt faktorem je autorka této dizertační práce na prvním místě. Výsledky studií autorka prezentovala na řadě zahraničních i domácích odborných shromážděních.

Připomínky a dotazy k předkládané práci:

- 1) Příložené přílohy nejsou označeny číslem ani číslovanými stránkami.
- 2) Z jakého důvodu byla měřena aktivita antioxidantních enzymů a glutathionu v erythrocytech?
Větší stabilita enzymů v erythrocytech může být výhodou pro sledování jejich aktivit za delší období, ale může být nevýhodná při sledování akutních změn. Liší se aktivita enzymů stanovená v hemolyzovaných erythrocytech a v plné krvi u sledovaných patologických stavů? Tato otázka je důležitá pro porovnání výsledků s literárními daty, kdy v některých studiích jsou stanoveny hladiny GSH v krvi, plazmě nebo v erythrocytech.
- 3) Název přílohy 3 uvedený na str. 88 se liší od názvu uvedeného na příložené příloze.
- 4) α -tokoferol nemá v cirkulaci speciální proteinový nosič a je transportován v lipoproteinech (převážně ve VLDL). Z těchto důvodů je obvyklé uvádět koncentraci α -tokoferolu v přepočtu na koncentraci plazmatických triacylglycerolů.
- 5) Mezi jednotlivými kontrolními skupinami jsou v průměrných koncentracích GSH v erythrocytech značné rozptyly. Má pro to autorka nějaké vysvětlení?


Závěr:

Předložená disertační práce řeší aktuální a významnou problematiku. Studie byly provedeny na pracovišti, kde oblast výzkumu zaměřená na patogenezi metabolických poruch má tradičně vysokou úroveň. Pečlivé shrnutí současných poznatků o problematice, podrobné uvedení metodik a věcná interpretace získaných výsledků dokazuje, že autorka je detailně seznámena s problematikou v dané oblasti a je schopna rozvíjet vědecké přístupy při řešení této problematiky. Řešení sledovaných otázek přineslo řadu nových poznatků, které by měly být podkladem pro další studie v dané oblasti. Přílohy dokumentují, že práce autorky byly

publikovány v časopisech s impakt faktorem a prezentovány na odborných setkáních v zahraničí i v tuzemsku.

Posuzovaná dizertační práce splňuje požadavky kladené na disertační práci, a proto doporučuji práci k obhajobě a kladné vyřízení žádosti o přiznání akademického titulu „philosophiae doctor“ (“Ph.D.”)

2. září 2013



Ing. Ludmila Kazdová, CSc.
Centrum experimentální medicíny,
IKEM, Praha