



UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE  
FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ

500 05 Hradec Králové, Heyrovského 1203, Česká republika, <http://www.faf.cuni.cz>  
tel. +420495067111, fax +420495518002

---

**Oponentský posudek disertační práce**

**„OXIDAČNÍ STRES NAVOZENÝ ŽELEZEM A JEHO OVLIVNĚNÍ  
FLAVONOIDY A BISFOSFONÁTY“**

Autor práce: MUDr. Metoděj Kolek

Pracoviště: Univerzita Karlova v Praze, Lékařská fakulta v Plzni, Ústav farmakologie a toxikologie

Školitel doktoranda: Prof. MUDr. Vladislav Eybl, DrSc.

**Obecná charakteristika**

Předložená disertační práce má experimentální charakter, klasické členění, je napsána na 92 stranách včetně bohaté grafické dokumentace, kterou představuje 13 tabulek a 27 grafů. Práce se opírá o sto převážně cizojazyčných, recentních pramenů. K vypracování práce byly použity prostředky grantů GA ČR 305/02/1231 a GA ČR 305/05/0344.

Téma práce je vysoce aktuální, problematika tzv. oxidačního stresu je studována z rozmanitých aspektů. Bylo prokázáno, že oxidační stres hraje důležitou roli v patogenezi řady onemocnění včetně tak závažných a rozšířených, jakou jsou např. ateroskleróza a její komplikace, diabetes mellitus, neurodegenerativní poruchy (např. Parkinsonova a Alzheimerova choroba) a řada dalších. Je pochopitelné, že studium látek s možnými protektivními účinky vůči oxidačnímu stresu – tzv. antioxidantů – poutá velkou pozornost.

Cíle práce odrážející zvolené téma jsou shrnuty na s. 23 ve třech hlavních cílech a pěti cílech dílčích. Z hlavních cílů je vhodné uvést studium oxidačních vlastností železa a jeho vliv na toxicitu jiného, toxikologicky významného kovu, jmenovitě kadmia, dále byly studovány antioxidantní vlastnosti zástupců látek rostlinného původu – jmenovitě flavonoidů quercetinu a silibininu, a látek organického syntetického původu, tzv. bisfosfonátů

(clodronatu, etidronatu, risedronatu). Zmíněné látky byly rovněž studovány u stavů organismu s přesycením železem i z hlediska možného chelatačního působení.

## **Teoretická část**

Tato část je rozdělena na tři kapitoly. Kapitola zabývající se železem a oxidačním stresem popisuje dobře známou katalytickou roli železa ve Fentonově reakci a jejími důsledky při šíření radikálových reakcí. Ze stavů spojených s přesycením organismu železem je zmíněna thalassaemia major. V kapitole zabývající se flavonoidy je značná pozornost věnována chemické struktuře a jejích obměn a vlivu na antioxidační, popř. chelatační vlastnosti. V části popisující vlastnosti bisfosfonátů jsou kromě známých účinků (inhibice resorpce kostní hmoty) naznačeny i možné antioxidační vlastnosti dané pravděpodobně chelatací iontů železa, což doposud není podrobněji prostudováno.

## **Použité metodiky**

Všechny pokusy byly provedeny na samcích myši CD-1, Charles River chovaných za standardních laboratorních podmínek. Z laboratorních metod k posouzení oxidačního poškození organismu bylo vybráno měření aktivity superoxiddismutázy v hemolyzátu erytrocytů, v jaterní tkáni aktivita glutathionperoxidázy, katalázy, dále koncentrace redukováného glutathionu; úroveň lipoperoxidace byla určena stanovením koncentrace malondialdehydu. Kromě toho v řadě vybraných orgánů byly stanoveny stopové prvky vápník, hořčík, zinek, měď a železo – tedy prvky hrající roli jako součást antioxidačních enzymů (Zn, Cu), ale i působících prooxidačně katalyzováním produkce volných radikálů – Fe a Cu.

Zvolené metody lze považovat za odpovídající k dosažení relevantních výsledků plynoucích z vytýčených cílů.

## **Výsledky**

Ve výsledkové části práce jsou, kromě vlastních výsledků, uvedeny i metodické záležitosti – rozdělení pokusných zvířat do skupin, dávkovací schémata testovaných látek, zopakovány zvolené postupy k posouzení míry oxidačního poškození organismu. Vzhledem k tomu, že v práci bylo použito 11 různých experimentálních uspořádání, je bezprostřední uvedených metodických postupů před výsledky užitečné a činí celou práci přehlednější.

Již z uvedeného faktu, tj. provedení 11 typů různých experimentů, je zřejmé, že bylo dosaženo řady výsledků, z nichž některé lze považovat za velmi přínosné. Jistě není zapotřebí opakovat v tomto posudku všechny dosažené nové poznatky, přesto některá fakta stojí za připomenutí:

- zvýšení oxidačního působení kadmia při přesycení organismu železem
- u quercetinu bylo potvrzeno jak antioxidační, tak prooxidační působení, a to v závislosti na dávkovacím schématu
- u silibininu převažoval prooxidační efekt
- bisfosfonáty naznačovaly antioxidační účinky, což může souviset s chelatací železa, popř. dalších sledovaných prvků

## Diskuse

Celkový rozsah diskuse zaujímá něco málo přes čtyři strany – vzhledem k velkému rozsahu experimentální části i značnému množství dosažených výsledků by možná diskuse mohla být v některých ohledech detailnější – viz poznámky k odborné stránce. Na druhou stranu je zapotřebí ocenit kritické posouzení dosažených výsledků v porovnání s literárními údaji. To ovšem u zvoleného tématu nepřekvapuje, neboť při studiu oxidačního stresu i možných postupů jeho ovlivnění závisí výsledný účinek studovaných látek na mnoha faktorech, které bývají v různých pracích rozmanité (zvolený typ pokusného zvířete, studované tkáně, typ zkoumané látky a její dávkovací schéma, zvolené metody k posouzení míry oxidačního stresu, aj.) a z čehož pak plynou často kontroverzní výsledky.

## Zhodnocení publikační aktivity

Dosažené výsledky, které odrážejí aktivitu nejenom doktoranda, ale i jeho spolupracovníků, zejména ing. Dany Kotyzové a školitele prof. MUDr. Vladislava Eybla, DrSc., byly publikovány ve třech pracích *in extenso* psaných v anglickém jazyce v recenzovaném časopise, resp. byly součástí monografie „Macro and Trace Elements“ vydané Friedrich Schiller University in Jena, Germany v r. 2004. Kromě toho je doktorand autorem tří abstrakt. Na všech uvedených publikacích figuruje MUDr. Kolek jako první autor.

## Formální zhodnocení

Formální stránku předložené disertace lze hodnotit celkově pozitivně, práce je psána přehledně a dobře stylisticky. K této části práce lze uvést několik poznámek či připomínek:

- v celé práci: místo desetinných teček mají být v českém jazyce desetinné čárky
- s. 6, odst. 2.1.5: pokud je název psán s th, pak by správně měl být thalassaemia, česky pak talasémie (viz Vokurka M, Hugo J. Velký lékařský slovník, Maxdorf, 2004)
- s. 8, 14, 16, 22: uvedené obrázky, byť jsou v teoretické části, by měly být číslovány
- s. 24: v popisu podmínek chovu měla být uvedena i použitá strava, její původ a také vyjádření souhlasu Etické komise s konáním pokusů
- s. 27. 4. ř.: IARC 1993 – s seznamu literatury tento ramen chybí
- s. 85, první citace: chybí rok vydání

## Poznámky a připomínky k odborné stránce

- s. 25, hladina lipoperoxidace: pokud se ke stanovení MDA použije TBA, je lépe hovořit o „látkách reagujících s TBA“ (tzv. TBARS – thiobarbituric acid-reacting substances), neboť TBA reaguje i s jinými látkami (např. bilirubinem)
- s. 26, 2. odst.: je škoda, že v jaterní tkáni nebyl sledován selen jakožto důležitá komponenta GSH-glutathionperoxidázy
- s. 27, nn: je popsáno 11 experimentálních postupů s různými dávkovacími schémata testovaných látek, ale není zdůvodněno (ani diskutováno), proč byly tyto dávky a doby podání použity. Z čeho autor vycházel?
- s. 35, 2. odst.: proč bylo parenterálně podáno železo jako dvojmocné (ve formě síranu železnatého), když se při tomto způsobu podání i v klinické praxi používá železo trojmocné?

## Celkové hodnocení

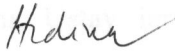
Předložená disertační práce přesvědčivě dokládá schopnost doktoranda řešit stanovené cíle vědeckým postupem. Zvládnutí metodologie vědecké práce bylo doloženo schopností analyzovat literární údaje, vytýčit cíle práce, zvolit vhodné metodické přístupy, analyzovat dosažené výsledky, kriticky je posoudit, a následně je sdělit vhodnou ústní i písemnou formou. Skutečnost, že dosažené výsledky byly opublikovány v časopisech s recenzním

řizním, předneseny na odborných konferencích doma i v zahraničí jednoznačně svědčí o aktuálnosti řešeného problému, významu i úrovni dosažených výsledků. Lze konstatovat, že vytčené cíle byly jednoznačně splněny.

## Závěr

Doporučuji disertační práci MUDr. Metoděje Kolka k obhajobě. Zároveň doporučuji komisi pro obhajoby disertační práce oborové rady Doktorského studijního programu pro obor lékařská farmakologie práci přijmout jako jeden z podkladů pro udělení příslušného vědeckého titulu.

V Hradci Králové dne 23.11.2005

  
Doc. MUDr. Radomír Hrdina, CSc.

Univerzita Karlova v Praze

Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

katedra farmakologie a toxikologie

Heyrovského 1203

500 05 Hradec Králové