

## Oponentský posudek disertační práce

Mgr. Olgy Popelové

### Farmakologická kardioprotekce pomocí chelátorů železa a antracyklinová kardiotoxicita

Disertace byla vypracována v Ústavu farmakologie Lékařské fakulty v Hradci Králové, UK v Praze, v těsné spolupráci s týmem Farmaceutické fakulty a dalších hradeckých pracovišť. Její náplní jsou výsledky dvou rozsáhlých studií publikovaných v prestižních časopisech *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* a *British Journal of Cancer* (oba s impakt faktorem > 4), které jsou přiloženy ke spisu. V obou případech je Mgr. Popelová první autorkou. Je nutno zdůraznit, že její publikační aktivita zahrnuje dalších 18 článků (z toho 13 v časopisech s IF) a řadu konferenčních sdělení publikovaných formou abstraktů.

Práce se zabývá kardiotoxickým působením antracyklinových cytostatik (konkrétně daunorubicinu) a zejména ochrannými účinky látek, které působí jako chelátory železa (dexrazoxan a deferipron) a omezují tak buněčné poškození vyvolané oxidačním stresem. Vysoce účinná protinádorová léčiva na bázi antracyklinu jsou v klinické praxi běžně používána již od 60. let minulého století k potlačení různých forem maligních procesů, přičemž jejich vedlejší nežádoucí účinky na srdce, které vedou k rozvoji kardiomyopatie a mohou vyústit v chronické srdeční selhání, představují závažné riziko léčby. Hledání způsobů, jak kardiotoxické působení těchto látek eliminovat či alespoň omezit při zachování jejich cytostatického účinku s využitím experimentálních modelů, je proto velice důležitou a aktuální oblastí základního výzkumu s bezprostřední vazbou na aplikační sféru. Farmakologická protekce pomocí chelátorů železa, které brání tvorbě toxického hydroxylového radikálu, je jednou z perspektivních možností ochrany srdce před škodlivými účinky oxidačního stresu spojeného s léčbou antracykliny. Výzkumný tým, v němž Mgr. Popelová zaujímá významné místo, se této otázce dlouhodobě systematicky věnuje a dosáhl již na tomto poli mnoha pozoruhodných výsledků, které se setkaly se zaslouženou odezvou.

Konkrétní okruhy otázek, které Mgr. Popelová řešila v této práci, jsou definovány na str. 42. Jednotlivé cíle vyplynuly jednak z důkladného rozboru výchozího stavu problematiky a jednak z vlastních výsledků dosahovaných postupně v průběhu studie. Provedené experimenty na sebe logicky navazují a práce tvoří kompaktní celek. Srovnání stanovených cílů a dosažených výsledků jednoznačně potvrzuje, že cíle byly beze zbytku splněny a v některých bodech i překonány.

Spis je členěn klasickým způsobem - obsahuje 150 stran textu (včetně seznamu použité literatury, 16 tabulek a 48 obrázků) a dvě přílohy s publikovanými články. Úvodní část shrnuje dosavadní stav poznání v oblasti mechanismu kardiotoxického působení antracyklinů a možnosti farmakologické ochrany. Těchto více než 30 stran textu jednoznačně svědčí o autorčině porozumění dané problematice v celé její šíři a především o schopnosti sdělit čtenáři, pro něhož není dané téma předmětem soustavného zájmu, podstatné informace nenásilnou a čtivou formou. Kapitola věnovaná metodice je přehledně rozdělena do řady oddílů, které popisují postupy a techniky používané v jednotlivých experimentech prováděných jednak na buněčných liniích a jednak na celých zvířatech. Není sporu o tom, že všechny experimentální modely, zvolené metody a postupy jsou plně adekvátní cílům práce a byly zvládnuty na patřičné úrovni. Je nutné ocenit vysoce komplexní přístup k řešeným otázkám, který by jistě nebyl možný bez úzké týmové spolupráce.

Vlastní výsledky jsou detailně prezentovány na 40 stranách rozdělených do čtyř hlavních podkapitol, odpovídajících jednotlivým cílům práce. Uspořádání výsledků je přehledné včetně pečlivě provedené grafické dokumentace. Autorce se podařilo získat množství prioritních poznatků, které poněkud mění dosavadní pohled na patogenezi antracyklinové kardiotoxicity a mechanismy protektivního působení chelátorů železa. Patří k nim především zjištění, že daunorubicin aktivuje komplexní proapoptotickou signalizaci a programovaná smrt kardiomyocytů se významně podílí na vzniku kontraktlní dysfunkce a rozvoji kardiomyopatie po chronickém podávání této látky králíkům, přičemž dexrazoxan těmto nežádoucím účinkům zcela zabránil. Jiný chelátor železa, deferipron, však žádné kardioprotektivní účinky nevykazoval. Z dalších zajímavých výsledků vyplývá, že oxidační stress indukovaný daunorubicinem nemá kumulativní charakter a ochranné působení dexrazoxanu může mít jiný mechanismus než potlačení tvorby reaktivních forem kyslíku a peroxidace lipidů. V tomto směru otevřela práce Mgr. Popelové velký prostor pro další výzkum.

Navazující diskuse je věcná, fundovaná a logicky uspořádaná. Přestože 25 stran textu není členěno do dalších oddílů, je tok informací plynulý a dobře navazující na předchozí text. Tato kapitola opět svědčí o důkladných znalostech dané problematiky a o schopnosti autorky posoudit vlastní výsledky, konfrontovat je s dosavadními literárními představami a především sdělit své myšlenky srozumitelnou formou i bez přílišného zjednodušení. Při procházení výsledků jsem si poznamenal asi deset otázek, na které jsem se chtěl zeptat – diskuse mi prakticky na všechny otázky dala jasnou odpověď.

Spis je zpracován pečlivě i po formální stránce; drobné formulační a stylistické nepřesnosti jsou zcela ojedinělé.

#### Připomínky a dotazy:

- 1) Na str. 16 je použit výraz *sarkoplasmatický stres*. Mohla by autorka tento pojem vysvětlit?
- 2) V tabulce 10 na str. 62 jsou prohozeny hodnoty tepové frekvence a krevního tlaku.
- 3) Jaká je příčina poklesu fragmentace DNA při zvýšení koncentrace daunorubicinu na 3  $\mu\text{mol/l}$  vzhledem k hodnotě detekované při koncentraci 1  $\mu\text{mol/l}$  (obr. 22, str. 70)?
- 4) Korelační analýzy byly prováděny na společných souborech dat ze všech experimentálních skupin, nikoli na datech v rámci jedné skupiny. To by mohlo vést k určitému zkreslení případného kauzálního vztahu. Např. v rámci daunorubicinové skupiny (11 hodnot) počet TUNEL-pozitivních jader s frakčním zkrácením levé komory vůbec nekoreluje (obr. 29E, str. 76).

#### Závěr:

Oponovaná práce přináší řadu původních nálezů, které významně obohacují současné představy o patogenezi antracyklinové kardiotoxicity a o mechanismu protektivního působení chelátorů železa. Autorka prokázala, že ovládá vědecké metody, má hluboké teoretické znalosti a je schopna samostatné výzkumné činnosti. Je nutné ocenit i formální a didaktickou úroveň spisu. Jsem jednoznačně přesvědčen, že disertace splňuje všechny náležitosti stanovené zákonem a doporučuji ji přijmout k obhajobě a Mgr. Olze Popelové udělit titul PhD.

V Praze, dne 19. 8. 2009

prof. RNDr. František Kolář, CSc.  
Fyziologický ústav AV ČR