



KLINIKA DETÍ a DORASTU LF UPJŠ a DFN

Klinika detí a dorastu LF UPJŠ a DFN, SNP 1, 040 11 Košice
tel.: +421 (055) 235 4682, VoIP 3283, IČO: 00397768
e-mail: milan.kuchta@lf.upjs.sk, <http://www.medic.upjs.sk>

OPONENTSKÝ POSUDOK

habilitačnej práce

Interpretácia markerov oxidačného stresu v klinickej antropológii

predloženej RNDr. Jankou Vaškovou, PhD,

vedeckou pracovníčkou Ústavu lekárskej a klinickej biochémie Lekárskej fakulty UPJŠ
v Košiciach

v študijnom odbore: **4.2.8. Antropológia**

Habilitačný spis je napísaný na 211 stranách formátu A4 a zviazaný do tvrdej väzby. Práca je členená na kapitoly, ktoré obsahujú Úvod, 1. kapitolu so 4 podkapitolami a Záver. Súčasťou spisu sú aj prílohy, ktoré predstavujú separátne výtlačky *in extenso* publikovaných vlastných prác autorky s komentármi (spolu 15). V spise sú zaradené aj príslušné formálne súčasti.

Po formálnej stránke je habilitačná práca spracovaná prehľadne a účelne. Reprinty vybraných prác, ktoré sú jej súčasťou, poskytujú komplementárne informácie relevantné k hlavnej téme. Text je napísaný prehľadne a gramaticky správne. Taktiež celková úprava predloženého rukopisu je na dobrej úrovni.

Stále rastúci počet *in vitro* aj *in vivo* experimentálnych a klinických štúdií svedčí pre to, že produkty neenzymatických reakcií, ktoré vznikajú pri spracovaní potravín, môžu hrať významnú úlohu pri vzniku a globálnom šírení chronických neinfekčných ochorení. V súčasnosti sú tieto považované produkty za najčastejšie zložky poškodzujúce zdravie a zároveň predstavujúce jednu z významných príčin rastu incidencie chronických neinfekčných chorôb populácie, vo všetkých krajinách, ktoré prijali „westernizovaný“ životný štýl. Aj ľudský organizmus má na svoju ochranu pred oxidačnými účinkami prostredia k dispozícii antioxidačné procesy, ktorých efektívne fungovanie je jedným z podkladov dobrého zdravia.

Keďže autorka sa dlhodobo venuje experimentálnemu aj aplikovanému výskumu účinkov vybraných látok na antioxidačné pochody konštatujem, že **téma predloženej habilitačnej práce je aktuálna a jej zameranie je v súlade so súčasnými trendmi aplikovaného výskumu na báze vedeckých dôkazov.**

V anotácii autorka stručne charakterizuje dôvody pre ktoré sa rozhodla pre danú tému, vysvetľuje obdobie vzniku priložených publikovaných prác (2008 - 2014) a dôvody ich vzniku (výstupy riešenia grantových úloh najmä VEGA, ale aj ASO granty z Maďarsko - slovenskej spolupráce).

Práca sa formálne skladá z dvoch nadväzujúcich častí. Prvá časť je venovaná stručnému literárnemu prehľadu riešenej problematiky (ovplyvnenie vybraných markerov oxidačného stresu účinkom niektorých prírodných a syntetických látok), druhú časť tvorí 15 samostatných príloh s výsledkami skúmanej problematiky, ktoré sú vždy uvedené stručnou (do 1. strany textu) anotáciou práce v štátnom (slovenskom) jazyku.

V Úvode autorka charakterizuje skúmané oblasti (1 Oxidačný stres a antioxidanty), podáva stručný, výstižný historický úvod do skúmanej problematiky (kapitola 1.1), opisuje úlohu aktívneho kyslíka a jeho radikálov a vzťahy k enzýmom podieľajúcim sa na kaskáde reakcií oxidačno-antioxidačných pochodov (1.2 a 1.3). V kapitole o endogénnych antioxidantoch (1.4) je problematika opisovaná aj z hľadiska možných klinických aplikácií a viaceré z priložených separátnych prác sú venované aj tejto klinicko-experimentálnej oblasti. Zároveň autorka v texte výstižne upozorňuje odkazmi na vlastné výsledky, ktoré sú uvedené v prílohách v druhej časti habilitačného spisu..

Ako príloha A, je zaradená rozsiahla (40s.) kapitola „Oxidative processes and antioxidative metaloenzymes:“, uverejnená v zahraničnej knižnej publikácii. Ďalšie separátne práce boli uverejnené predovšetkým v zahraničných recenzovaných časopisoch. Ďalšou prílohou je experimentálna práca, kde sa sledovala schopnosť ovplyvniť redoxný stav organizmu po podaní humínových kyselín v izolovaných hepatocytoch potkanov. Zaujímavou experimentálnou prácou je aj práca v prílohe C, kde autori preukázali schopnosť modulácie redoxného stavu napr. oregana na ovplyvnenie životaschopnosti testovaných nádorových bunkových línií. Zistené vlastnosti extraktov niektorých rastlín, tak môžu byť užitočné pri prevencii rôznych ochorení súvisiacich s oxidačným stresom. Podobné skúsenosti sú publikované v práci v prílohe D, kde autorka testovala extrakt z pagaštana konského.

Ďalšou zaujímavou (nielen z experimentálneho, ale aj klinického hľadiska) je práca v prílohe E, v ktorej sa testoval vplyv kyseliny retinovej a jej dávky na vznik a prevenciu rozštepov neurálnej trubice potkanov. Preventívny efekt kyseliny retinovej nie je z dlhodobého hľadiska veľmi pozitívny, čo je dôležité zistenie. Aj v práci v prílohe F, skúmala autorka efekt polyfenolov (konkrétne vybraných chalkónov) na mitochondriové funkcie. Zistila, dvojitý efekt (odpájanie alebo aj inhibícia mitochondriálnej respirácie) týchto látok na niektoré funkcie mitochondrií. Čo je závažná informácia z hľadiska možnosti „predávkovania“ polyfenolov v strave.

Obdobnú problematiku študovala autorka s kolektívom spoluautorov aj pri skúmaní vplyvu hydroxyl substituovaných chalkónov (ktoré môžu vznikať aj pri intraluminálnom metabolizme v čreve) na izolované pečenné mitochondrie (príloha G). Zistili, že tieto substancie môžu navodiť až apoptózu buniek v závislosti na dysbalanciu metabolických procesov spustených skúmanými látkami. Ďalším z tejto série pokusov bol aj experiment opísaný v prílohe H, kde autorka zistila možný cytotoxický účinok niektorých derivátov chalkónov. V nadväznosti na uvedené publikácie (E, F, G, H), bolo v sérii pokusov aj štúdium cytotoxických účinkov vybraných chalkónov (z predchádzajúcich štúdií). Potvrdili ich schopnosť aktivovať vnútornú apoptotickú dráhu v hepatálnych mitochondriách.

V separátke v prílohe J, sa autorský kolektív podujal skúmať vplyv diéty s pridaním rôznych rastlinných extraktov a kyseliny gama-linolénovej na zmeny aktivity antioxidačných enzýmov a úroveň redukovaného glutatiónu v tkanivách brojlerov. Očakávané zmeny však detegovali len v diéte s prídavkom extraktu repíka a kyseliny gama-linolénovej.

Za klinicky (aplikačne) významnú považujem prospektívnu observačnú štúdiu v prílohe K, v ktorej bol suplementovný selén u 72 pacientov v sepe. Zistili, že v skupine suplementovaných pacientov nastalo zvýšenie antioxidačnej kapacity seléndependentného enzýmu ale zároveň aj pokles mortality o 16,7% oproti nesuplementovaným. Obdobná klinicko-experimentálna štúdia je publikovaná v prílohe L, kde u 65 septických pacientov s akútnym poškodením pľúc sa suplementoval selén a došlo k zvýšeniu glutatióperoxidázy i superoxiddizmutázy. Tento efekt však chýbal u pacientov s poškodením obličiek. Práca v prílohe M je ďalšou zo série sledovania vplyvu aditívnych látok na zápalový proces spojený s oxidačno-antioxidačnou dysbalanciou, tento krát u pacientky s multiorgánovým zlyhaním, kde sa popri komplexnej terapii aplikovala aj parenterálna aplikácia selénu, čo zrejme viedlo k významnej regresii hepatálnej insuficiencie. Ďalšími, z tejto série klinických aplikácií, sú práce uvedené ako príloha N a príloha O. V nich sa autorské kolektívy venujú aplikácii adjuvantnej terapie (glutamín, seleničitan sodný) u kriticky chorých pacientov (septický šok s multiorgánovým zlyhaním a baktériová meningitída), kde zistili pozitívny efekt tejto terapie na zlepšenie parametrov antioxidačnej ochrany aj so žiaducim klinickým korelátom.

Výsledky získané v predkladanej práci majú najmä rozširujúci význam v skúmanej oblasti, ale práca prináša aj niektoré nové poznatky a je prínosom pre rozvoj v odbore.

Kapitola Záver obsahuje následný súhrnný komentár v ktorom sú zahrnuté závery, na okruhy tém predstavených v kapitole Úvod. **Habilitačná práca splnila stanovené ciele.**

Úvodné poznámky, ktorými autorka uvádza oblasť skúmanej problematiky, sú napísané výstižne. Komentované separátne práce i práce uvedené v databáze materskej univerzity, poukazujú na cca 10 ročné pôsobenie autorky v oblasti metód orientovaných na oxidačno-antioxidačnú dysbalanciu a jej ovplyvnenie v experimente, ale i v klinických pozorovaniach so zverejňovaním výsledkov v recenzovaných publikáciách doma i v zahraničí.

V štruktúre habilitačného spisu sa v priložených publikáciách (aj v prehľade publikačnej činnosti autorky z oficiálnych zdrojov), odzrkadľuje i odborný vývoj autorky. Sú to práce so zameraním najmä experimentálnym, taktiež analytickým, ale aj práce prehľadové až po kapitoly v monografiách obsahujúce aktuálne zhrnutie a hodnotenie skúmanej problematiky v danom období. Autorka dokumentuje výstupmi svojej vedeckej a odbornej činnosti schopnosť spracovať zvolený odborný problém s medziodborovým prístupom a závermi a na základe vlastného

výskumu priniesla aj nové poznatky. Aj vzhľadom k tomu, že všetkých 15 uvádzaných prác prešlo oponentským pokračovaním, konštatujem, že **autorka správne zvolila výskumné metódy a metódy spracovania údajov.**

Pripomienky:

- pre názov časti Zoznam značiek by bol vhodnejší názov Zoznam skratiek. Nie všetky skratky z doplnujúceho textu spisu sú v ňom uvedené (napr. DNA, UV-VIS, Se-AOX...),
- používanie termínu „hladina“ pri označovaní „koncentrácie“ látky, či „aktivity enzýmu“ nie je vo vedeckom jazyku správne,
- správnejší vzorec pre Frémyho soľ (nitrosodisulfonát draselný), by bol asi kumulatívne: $(K_2[NO(SO_3)_2])$, na miesto $(KSO_3)_2NO$,
- správne má byť „20. storočia“, nie „20.-teho“.
- V texte sa len veľmi ojedinelo vyskytujú pravopisné nedostatky (napr. preklepy, či používanie nesprávnych interpunkčných znamienok, medzier, chýbanie písmen, používanie „u/pri“... napr. na s.31, s.129, 144, 164...), čo oceňujem.
- V práci nie je v samostatnej kapitole deklarovaný „cieľ“, ciele sú iba opisne uvedené v časti Úvod (s.11-12)

Otázky:

1, Na základe akých údajov bola zvolená dávkovacia a aplikačná schéma adjuvantnej terapie (selén, glutamín) u kriticky chorých pacientov vo vašich publikáciách (prílohy K - O)?

2, Významným prirodzeným antioxidantom je aj melatonín. Aké máte skúsenosti s jeho skúmaním v kontexte s témou habilitačného spisu?

Záver:

Habilitačná práca demonštruje kontinuálnu vedeckú aktivitu autorky v oblasti výskumu ovplyvnenia oxidačno-antioxidačných dejov s extrapoláciou do oblasti klinickej praxe.

- Habilitačná práca spĺňa formálne kritéria pre menovanie docentov v znení Kritérií na vyhodnotenie splnenia podmienok získania vedecko-pedagogického alebo umelecko-

pedagogického titulu docent a kritérií na vyhodnotenie splnenia podmienok získania vedecko-pedagogického alebo umelecko-pedagogického titulu profesor, schválené Vedeckou radou Prešovskej univerzity v Prešove dňa 19. mája 2014, v súlade s §12 ods. 1 písm. e) zákona č. 131/2002 Z.z. v znení neskorších predpisov, nadobúdajúcich účinnosť 1. júla 2014.

• Predloženú habilitačnú prácu, odporúčam ako podklad pre habilitačné konanie a súčasne odporúčam, aby po úspešnej obhajobe **bola** RNDr. Janka Vašková, PhD., **vymenovaná za docenta v odbore 4.2.8. Antropológia.**

Košice 28.01.2016

Doc. MUDr. Milan Kuchta, CSc. mim. prof.

Oponentský posudok na habilitačnú prácu RNDr. Janky Vaškovej, PhD. „Interpretácia markerov oxidačného stresu v klinickej antopológii“

Habilitačná práca pani RNDr. Janky Vaškovej, PhD. sa zoberá v širšom ponímaní štúdiom mitochondriálnej oxidatívnej fosforylácie a je zameraná na reaktívne formy kyslíka a dusíka a na adaptívnu odpoveď prostredníctvom vybraných antioxidačných markerov po indikácii selektívnymi prírodnými alebo syntetickými látkami *in vivo* a *in vitro*.

Ide o veľmi aktuálnu tému, ktorá okrem gnozeologického hľadiska má veľký praktický význam. O tom svedčia aj granty, ktoré boli kolektívu, ktorého súčasťou bola aj Dr. Vašková, udelené a úspešne realizované. Dôkazom toho je bohatá publikačná činnosť v renomovaných zahraničných časopisoch.

Predkladaná práca je dosť rozsiahla, spolu má 211 strán. Je zložená z dvoch častí. Prvá časť je venovaná literárnemu prehľadu danej problematiky. Venuje sa oxidačnému stresu a antioxidantom. Je rozdelená na 4 časti a to 1. Od počiatku v poznaní k súčasným intervenciám a perspektívam. 2. Aktivému kyslíku. 3. Endogénnej produkcii reaktívnych foriem kyslíka a dusíka. 4. Endogénnym antioxidantom. Ide o dobre spracované časti, kde okrem literárnych údajov sú použité aj vlastné zistenia. Takže ide vlastne o veľmi vhodnú diskúziu známych poznatkov s dosiahnutými vlastnými výsledkami. Táto časť práce je veľmi dobre spracovaná.

Nasleduje „Záver“, kde sú zhrnuté vlastné dosiahnuté výsledky. Veľmi oceňujem štúdium vplyvu prírodných markerov. V tomto ohľade mám skôr dotaz a nie otázku. Myslíte si, že množstvo použitých markerov (napr. ug/na určitú jednotku) je dôležitý, alebo podstatný?

A ešte ma zaujali Vaše výsledky s adjuvantnou terapiou selénom. Máte nejaké vedomosti z literatúry, alebo z vlastných experimentov o vplyve selénu na kardiovaskulárne ochorenia?

Za dôležitý výsledok považujem zistenia o synergickom efekte vybraných markerov.

Druhú časť práce tvorí 15 príloh. Ide o jednu kapitolu zo zahraničnej knižnej publikácie a 14 publikácií v časopisoch. Keďže ide o práce, ktoré prešli prísnyim oponentským konaním jednotlivých odborne významných časopisoch, nemám žiadnu potrebu sa k nim vyjadrovať. Chcem len oceniť angažovanosť a aktivitu habilitantky v problematike výskumu, ale aj v publikačnej činnosti. Svedčí o tom aj skutočnosť, že z 15 prezentovaných publikácií v piatich prípadoch je prvou autorkou a v 7 je druhou.

Celkovo hodnotím habilitačnú prácu ako veľmi dobrú. Je dobre spracovaná a dobre sa číta, radím ju za nadštandardnú.

ZÁVER :

V habilitačnej práci preukázala pani RNDr. Janka Vašková, PhD. vysokú odbornú úroveň a spôsobilosť k vedecko-výskumnej práci a to nie len v príprave , realizácii a prevedení experimentov, ale tiež v oblasti interpretácii výsledkov a pri ich publikovaní. RNDr. Janku Vaškovú, PhD. považujem za veľmi vhodnú kandidátku na získanie vedecko-pedagogického titulu docent. Predloženú habilitačnú prácu doporučujem ako podklad k ďalšiemu habilitačnému pokračovaniu a po jeho úspešnom priebehu doporučujem aby pani RNDr. Janka Vašková, PhD. bola menovaná

docentkou v študijnom odbore 4.2.8. antropológia.

Prof. Ing. Jozef Timko, DrSc.

Fakulta prírodných vied UCM Trnava



ÚSTAV HISTOLÓGIE a EMBRYOLÓGIE
prednostka: prof. MUDr. Eva Mechírová, CSc.
UPJŠ LF, Šrobárova 2, 040 01 Košice
e-mail: eva.mechirova@upjs.sk

Prof. RNDr. René Matlovič, PhD.
dekan FHPV PU v Prešove
ul. 17. novembra 1
081 16 Prešov

Spectabilis,
vážený pán dekan,

na základe Vášho menovania prijímam funkciu oponenta na vypracovanie oponentského posudku na habilitačnú prácu RNDr. Janky Vaškovej, PhD. „**Interpretácia markerov oxidačného stresu v klinickej antropológii**“ v súvislosti so začatím jej habilitačného konania v odbore 4.2.8 Antropológia.

Predložená habilitačná práca predstavuje súbor 15 publikovaných prác v recenzovaných časopisoch, ktoré vznikli v rokoch 2008 – 2014 v rámci riešenia grantových úloh. Habilitačná práca má 211 strán vrátane 165 literárnych údajov, 15 publikácií a 59 strán tvoriacich spoločný literárny prehľad. V ňom autorka vytvorila podrobný prehľad o reaktívnych formách kyslíka a dusíka, mechanizmoch ich vzniku aj funkciách v organizme za fyziologických aj patologických stavov. Súčasne sú detailne opísané aj synergicky pôsobiace endogénne antioxidantné enzýmy – SOD, kataláza a glutatiónperoxidáza a reduktáza, ako aj ich účasť na obranných reakciách organizmu. Autorka do literárneho prehľadu vhodne zakomponovala výsledky vlastného výskumu a predstavuje nám svoju víziu prepojenia medzi experimentálne získanými poznatkami a ich využitím v oblasti klinickej antropológie.

Cieľom habilitačnej práce, ako aj cieľom celej vedecko - výskumnej práce RNDr. Janky Vaškovej, PhD., bolo sledovanie možností ovplyvnenia markerov oxidačného stresu pomocou niektorých prírodných a syntetických látok. Z prírodných použila humínové kyseliny, escin z pagaštanu, extrakt šalvie a oregána, sibírsky ženšen a stéviu, pričom konštatuje, že príjem

rastlinných extraktov je potrebné starostlivo zvážiť napriek deklarovaným pozitívnym účinkom na organizmus aj v čase oxidačného stresu.

Autorka ďalej konštatuje, že synteticky pripravené látky sú zvyčajne toxické nie len pre napr. nádorové bunky, ale aj pre ostatné bunky. Na základe toho boli pripravené zlúčeniny s ferocénovými substituentmi, ktoré ich vlastnosti zvýrazňujú a pre normálne bunky sú bezpečné. V ďalšej štúdií adjuvantná terapia selénom u kriticky chorých pacientov viedla k obnove aktivít antioxidantného selenoenzýmu.

Keďže všetkých 15 prác, zahrnutých v habilitačnej práci, prešlo oponentúrou recenzentov v jednotlivých časopisoch, neprináleží mi publikované práce znova prehodnocovať. Môžem len konštatovať, že dosiahnuté výsledky predstavujú prínos pre lekárske vedy, medzi ktoré patrí aj klinická biochémia a antropológia.

Záver:

Predložená habilitačná práca svedčí o intenzívnej vedeckej činnosti RNDr. Janky Vaškovej, PhD., a o jej širokom zábere s dobrým teoretickým základom. Schopnosť jasnej formulácie problému, logické vyjadrenie a posúdenie získaných výsledkov dokazujú jej vysokú vedeckú a aj pedagogickú erudovanosť.

Na základe uvedeného odporúčam, aby predložená habilitačná práca RNDr. Janky Vaškovej, PhD., bola prijatá za základ habilitačného konania pre udelenie pedagogicko-vedeckej hodnosti **docent** v študijnom odbore 4.2.8 Antropológia.

V Košiciach, 22.12.2015.

prof. MUDr. Eva Mechírová, CSc.