UNIVERZITA KARLOVA
FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ
Katedra biochemických věd

Studijní program: Farmacie

Posudek oponenta diplomové práce

Autor/ka práce: **Andrea Homerová**

Vedoucí/školitel/ka práce: RNDr. Eva Novotná, Ph.D.

Konzultant/ka práce:

Rok obhajoby: 2019

Oponent/ka práce: RNDr. Jakub Hofman, Ph.D.

Název práce:
Interakce přírodních látek s lidskou aldo-ketoreduktasou 7A2 a dalšími významnými karbonylredukujícími enzymy

---

Rozsah práce: počet stran: 146, počet obrázků: 46, počet tabulek: 31, počet citací: 252

Práce je: experimentální

a) Cíl práce je: zcela splněn
b) Jazyková a grafická úroveň: výborná
c) Zpracování teoretické části: výborné
d) Popis metod: velmi dobrý
e) Prezentace výsledků: výborná
f) Diskuse, závěry: výborné
g) Teoretický či praktický přínos práce: výborný

Doporučuji diplomovou práci k uznání jako práci rigorózní ☒

Případné poznámky k hodnocení: V předložené diplomové práci se autorka věnuje vlivu vybraných sto osmi přírodních sloučenin na aktivitu AKR7A2 a dalších enzymů z nadrodiny AKR a SDR. Práce je logicky členěna, jazyková úroveň je velmi vysoká, vyskytuje se pouze minimum překlepů nebo nesprávných formulací. Obsah teoretické části koreluje s obsahem části experimentální. Metodický a experimentální rozsah práce je výrazně nadstandardní, celkový rozsah práce je přibližně dvojnásobný ve srovnání s ostatními diplomovými pracemi. Výsledky jsou pečlivě popsány a odpovídajícím způsobem diskutovány. Celková úroveň práce je velmi vysoká. Po obsahové ani grafické stránce k práci nemám žádné zásadní výhrady, mám pouze několik připomínek a dotazů.

Dotazy a připomínky:
Připomínky:
1) Na str. 14 je použit výraz "degradovaný", který není pro daný význam zcela správný. Na str. 19 jsou uvedeny kofaktory NADH a NADPH v plném tvaru. V tomto tvaru se píší jednoslovně.
2) V průběhu textu je několikrát zmíněno, že redukované metabolity antracyklinů se mohou podílet na kardiotoxicitě těchto antineoplastik. Přijde mi nelogické, že v kapitole 2.1.2, která se přímo tomuto nežádoucímu účinku věnuje, tato skutečnost není ani zmíněna, ani blíže specifikována.
3) Obr. 6 by měl být prezentován fe formě přeložené tabulky.
4) Doporučuji opatrnost co se týče označování inhibitorů jako specifických, resp. selektivních. Na str. 32 uvádíte, že benzbromaron je selektivním inhibitorem AKR1C1. Stejné

tvrzení je ale využíváno i ve vztahu k ABC transportéru ABCC1 (multidrug resistance-associated protein 1).
5) Na str. 37 píšete, že Bruynzeel et al. ve své práci uvádí, že flavonoidy mají schopnost inhibovat karbonylredukující enzymy. Nic takového jsem v publikaci nenašel.
6) Popis materiální a metodické části vykazuje určité nedostatky. Výraz "regenerační systém" bez slova NADPH působí neúplně, neodráží plně význam této reakční komponenty. U řady přírodních látek chybí zdroj. Příprava rekombinantních enzymů je pouze zmíněna, ale není popsána, přičemž chybí odkaz na literaturu. V tab. 2 chybí koncentrace zásobního roztoku MgCl2 a jednotky u enzymu glukóza-6-fosfátdehydrogenázy. V popisu přípravy inhibitorů na str. 48 chybí informace, v čem byly rozpuštěny. Popis množství enzymu v reakci na str. 53 je nevhodný, správně se uvádí množství v ug. Analogicky koncentrace daunorubicinu by měla být uvedena jako finální a ne jako koncentrace zásobního roztoku (rovněž str. 53).
7) Prezentování stejných výsledků ve formě tabulky i obrázku je redundantní (platí pro drtivou většinu výsledkové části), doporučil bych výběr pouze jedné formy prezentace.
8) U jednotlivých experimentů chybí uvedení počtu nezávislých opakování.

Dotazy:
1) Jak jste vybírali koncentraci daunorubicinu (500 uM) pro testování inhibičních vlastností přírodních látek vůči enzymu AKR7A2? Co by hrozilo při aplikaci koncentrace z té oblasti kinetické křivky, kde je dosahována saturace?
2) Proč jste pro většinu testovali látek vybrali právě enzym AKR7A2? Tento enzym je sice exprimován v srdeční tkáni, ale na přibližně stejné úrovni jako mnohonásobně aktivnější enzymy AKR1C3, CBR1 a AKR1A1. Uvádíte, že overexprese AKR7A2 byla popsána u málo frekventovaného typu AML se specifickými genetickými změnami. Jaká je exprese v jiných typech nádorů?
3) Některé z testovaných látek místo inhibice enzym AKR7A2 velice výrazně aktivovaly, např. (-)-korypalmin 4.62-krát, (+)-N-methyllaurotetain 3.08-krát aj. Jak si to vysvětlujete? Byla u enzymu AKR7A2 popsána možnost allosterické aktivace?
4) Hodnota IC50 pro EGCG je rovna 75 uM. Existují nějaké studie sledující plasmatické hladiny této sloučeniny po konzumaci čaje, popř. po podání syntetické varianty? Odhadnete, zda by pozorovaná interakce mohla být klinicky relevantní?

Celkové hodnocení, práce je: výborná, k obhajobě: doporučuji

V Hradci Králové dne 28.5.2019 ……
podpis oponentky / oponenta