



Univerzita Karlova v Praze, 1. Lékařská fakulta  
Klinika dětského a dorostového lékařství  
Laboratoř pro studium mitochondriálních poruch  
Ke Karlovu 2, 128 08 Praha 2  
Tel./ Fax: + 420 224 967 099

**Oponentský posudek na doktorskou disertační práci  
RNDr. Věry Kotrbové**

**„Studium aktivačního a detoxikačního metabolismu protinádorového léčiva ellipticinu  
systémem cytochromů P450 *in vitro* a *in vivo*“**

Téma předkládané práce je vysoce aktuální, protože se podílí na řešení otázek spojených s jedním z civilizačních problémů současnosti – nádorových onemocnění, která jsou v ČR druhou nejčastější příčinou úmrtnosti. Práce přispívá ke studiu podstaty, mechanismů a možností léčby toho závažného onemocnění.

Cílem předkládané práce bylo rozšíření současných znalostí v oblasti metabolismu protinádorového léčiva ellipticinu. Mezi dílčí cíle práce patřilo:

- studovat metabolismus ellipticinu cytochromy P450 v mikrosomech modelových organismů a taktéž purifikovanými P450
- studovat vliv ellipticinu na indukci cytochromů podrodiny P450 1A
- studovat vliv cytochromu b<sub>5</sub> na oxidaci ellipticinu katalyzovanou cytochromy 450 1A1 a 1A2 a objasnění mechanismu působení b<sub>5</sub> na výše zmíněné cytochromy
- připravit a charakterizovat majoritní adukt ellipticinu s DNA

Na základě výsledků shrnutých v předložené práci, ale i souboru předložených publikací mohu konstatovat, že cíle doktorské práce byly splněny. Doktorandka uplatnila při řešení problematiky racionální přístup, prokázala, že ovládá široké spektrum experimentálních metod včetně práce s laboratorními zvířaty, biochemických purifikačních metod, enzymatických metod, elektroforetických a imunochemických metod a také metod genové exprese.

K posouzení předložila úctyhodnou sérii výsledků, z nichž za významné považuji zejména tyto:

- potvrzení, že vhodným modelovým organismem, srovnatelným s mikrosomálním systémem člověka pro studium metabolismu ellipticinu, je potkan,
- identifikaci izoforem cytochromů P450 zodpovědných za tvorbu jednotlivých metabolitů ellipticinu,
- zjištění a potvrzení schopnosti ellipticinu jako induktoru Cyp1A1/2,

- prokázání úlohy cytochromu b<sub>5</sub> jako modulátoru oxidace ellipticinu a její kinetiky cytochromy P4501A1/2
- přípravu funkčního rekombinantního b<sub>5</sub> a jeho charakterizaci.

Celá práce svědčí o velké teoretické a metodické zdatnosti autorky a o její pílí a afinitě k vědecké práci. Přináší zcela nové poznatky v oblasti studia protinádorové terapie. Autorka svou prací prokázala způsobilost k tvůrčí vědecké činnosti. Chtěla bych vyzdvihnout mimořádný experimentální rozsah předkládané práce a tomu odpovídající množství hodnotných výsledků.

Předkládaná disertace představuje soubor 7 původních prací publikovaných v časopisech s IF, u jedné z nich a u další publikace v přípravě doktorandka první autorkou. Doktorská práce je psána v českém jazyce. Publikacím předchází velice čtivý komentovaný přehled, který má obvyklou skladbu: Úvod a literární přehled, cíle, materiál a metody, výsledky, diskuze a závěr. Kapitoly jsou doplněny 37 obrázky a grafy a 7 tabulkami, které ilustrují jednotlivé výsledky. Práce cituje celkem 203 literárních zdrojů. Autoreferát je stručný a přehledný a splňuje svůj účel.

K předložené práci mám tyto dotazy:

Autorka uvádí, že jedním z několika známých mechanismů účinku ellipticinu je i inhibice systému oxidativní fosforylace a produkce ATP v mitochondriích. Dalo by se spekulovat jak významný (účinný) je tento mechanismus vzhledem k dalším uvedeným mechanismům působení ellipticinu ( tvorba aduktů s DNA, inhibice topoisomerasy a pod?)

Jedním z výsledků je i průkaz indukční vlastnosti léčiva ellipticinu. Zohledňuje se tato skutečnost při plánování dávkování léčebné kúry u pacientů s nádorovým onemocněním? Používá se v humánní medicíně nějaký jiný induktor P450 ke zvýšení účinnosti přeměny tohoto léčiva?

Autorka v diskuzi zmiňuje i práce, které studovaly přeměnu ellipticinu na úrovni tkáňových kultur pocházejících z lidských nádorových buněk. Byla někdy zkoumána přeměna ellipticinu i mikrosomálními systémy izolovanými přímo z tkáně různých nádorů u člověka?

**Závěr:** Po stránce aktuálnosti řešeného problému, metodického přístupu, množství získaných nových poznatků a jejich významu jde o vynikající doktorskou disertační práci. Autorka prokázala potřebné odborné vědomosti i schopnost samostatné vědecké práce. Na základě uvedených skutečností doporučuji, aby byla doktorská disertační práce přijata k obhajobě a

**aby byla RNDr. Věře Kotrbové udělena vědecká hodnost „ PhD“.**

V Praze 21.11.2008

  
RNDr. Hana Hansíková, CSc