

Posudek oponenta

na diplomovou práci Hany Kourové:
„Role cytochromu P450 v metabolismu potenciálního lidského
karcinogenu *o*-anisidinu“

Předkládaná diplomová práce vhodným způsobem doplňuje soudobé poznatky o mechanismu metabolických přeměn jak *o*-anisidinu, tak i *o*-nitroanisolu. Obě látky se vyskytují nejenom v průmyslových výrobcích, ale i v životním prostředí a jsou řazeny do skupiny pravděpodobných karcergenů pro lidský organismus. Práce se zaměřuje na jejich společný metabolit, N(2-methoxyfenyl)hydroxylamin, a jeho vznik z *o*-anisidinu za katalytického působení cytochromů P450.

Množství reaktivního meziproduktu dalších metabolických přeměn, N(2-methoxyfenyl)hydroxylaminu, bylo stanovováno dvěma způsoby: (1) nepřímo pomocí úbytku NADPH spotřebovaného při oxidaci *o*-anisidinu a (2) za využití redukčních vlastností hydroxylaminu, který redukoval železité ionty na železnaté. Zvláště druhý přístup stanovení koncentrace vzniklého N(2-methoxyfenyl)hydroxylaminu přinesl výborné výsledky, a tím otevřel cestu k velmi dobře zpracovaným kinetickým studiím přeměny *o*-anisidinu na N(2-methoxyfenyl)hydroxylamin, které prezentuje tato práce.

V teoretické části diplomové práce autorka velmi komplexně přibližuje znalosti o cytochromech P450 podílejících se na aktivaci prokarcinogenů. Teoretická část dále dokazuje, že se autorka výborně orientuje v nejnovějších informacích týkajících se *o*-anisidinu a *o*-nitroanisolu.

Z formálního hlediska bych rád zdůraznil, že celá práce je velmi dobře a logicky členěna. Jednotlivé části na sebe výborně navazují a na čtenáře působí svou přehledností a srozumitelností. V práci jsem se setkal s četnými překlepy a některými špatnými odkazy v textu. (Na str. 34 je špatný odkaz na obrázek, v tab. 4 je zřejmě nesprávná legenda, citace 1 obsahuje statistiku výskytu nádorových onemocnění a nezabývá se teorií karcinogeneze, jak je uváděno v textu, a citace 71 chybí úplně.)

K práci mám následující připomínky a dotazy:

1. Z kolika měření byly vypočteny hodnoty pro sestavení grafu časové závislosti vzniku N(2-methoxyfenyl)hydroxylaminu v průběhu oxidace fenobarbitalem indukovaných mikrosomálních cytochromů P450 na straně 68?
2. Myslíte si, že za redukcí N(2-methoxyfenyl)hydroxylaminu na *o*-anisidin je zodpovědný spíše cytochrom P450, nebo NADPH:cytochrom P450 reduktasa, nebo NADH:cytochrom b₅reduktasa, které jsou přítomné v mikrosomech?

3. Jakým způsobem zastavuje přidavek kyseliny fosforečné vznik komplexu, tvořeného ze stanovovaných železnatých iontů a 7,7-difenyl-1,10-fenantrolinu?
4. Jak si vysvětlujete skutečnost, že nedocházelo k úbytku nestabilního N(2-methoxyfenyl)hydroxylaminu při jeho inkubaci s mikrosomálním systémem P450 (str. 71)?

Uvedené připomínky hodnotím jako nezávažné a v žádném případě nesnižují hodnotu práce, kterou považuji za velmi vysokou. Proto práci plně doporučuji k obhajobě a k dalšímu řízení.

Oprava textu není podmínkou přijetí diplomové práce k obhajobě a dalšímu řízení.

V Praze, 17. 5. 2009

RNDr. Karel Naiman

