

Oponentský posudek na rigorózní práci

Mgr. Vojtěch ZADÁK

„TESTOVÁNÍ POTENCIÁLNÍCH LIGANDŮ KONSTITUTIVNÍHO ANDROSTANOVÉHO RECEPTORU CAR“

V předkládané rigorózní práci je velmi podrobně popsána struktura funkce konstitutivního androstanového receptoru – CAR, zástupce rozsáhlé rodiny nukleárních receptorů, u něhož byly nedávno objeveny zajímavé metabolické funkce.

Stěžejní část této experimentální rigorózní práce spočívá v testování a hodnocení 16 látek jako potenciálních ligandů lidského CAR receptoru. Všechny sloučeniny s předpokládanou protizánětlivou aktivitou (předpokládaný vliv na COX i LOX) byly připraveny v 90. letech 20. století ve Výzkumném ústavu pro farmacii a biochemii v Praze (VUFB).

Nejprve byla zjištěna cytotoxicita všech látek MTT testem a následně byla třemi metodikami testována selektivita vazby na CAR. Výsledky experimentů ukázaly, že čtyři z testovaných látek jsou ligandy – agonisté CAR. Nejlepší výsledky vykázala 2-(acetylsulfanyl)-4-(2',4'-difluorbifenyl-4-yl)-4-oxobutanová kyselina (VUFB 20007).

V závěru práce jsou uvedeny výsledky, které jsou zobrazeny v grafech a je konstatováno, že uvedená látka by mohla být použita jako specifický agonista k dalšímu objasňování funkce lidského konstitutivního androstanového receptoru.

Připomínky:

Lze konstatovat, že rigorózní práce je sepsána podle obecných kritérií, bohužel text, ač obsahově velice zajímavý, je složitý pro čtení a působí jednolitě a špatně se v něm orientuje. Věty jsou příliš dlouhé a obsahují mnoho závorek, vsuvek a dalších rozvíjejících větných členů, čímž se text stává velmi nepřehledným. Bylo by lépe věty rozdělit a vše postupně vysvětlit. Dále lze vytknout několik nedostatků:

- Ve větách jsou míchány české a anglické názvy, např. na str. 10 se vyskytuje „retinoic acid response elementum“. Toto sousloví lze přeložit jako „citlivý k fragmentům kyseliny retinové“; na str. 18 je výčet různých receptorů česky a náhle se objeví „thyreoid hormone receptor“. Tento nešvar se v práci objevuje na mnoha dalších místech.
- V práci je mnoho obrázků, grafů a tabulek. Všechny jsou velmi ilustrativní a mají podrobné popisky, nicméně nikde nejsou zmíněny v textu. Rovněž logičtější by bylo umístění obrázků v kapitole, ke které se uvedený obrazový materiál vztahuje, např. Obr. 4 (Způsoby vazby ligandů k receptoru CAR-LBD) by bylo vhodnější umístit do kapitoly 3.5 (CAR – Ligandy a aktivátory) než do kapitoly 3.3 (CAR – architektura LBD).
- Řádky textu by neměly být zakončeny jedno, dvou a třemi písmennými slovy typu spojek předložek apod. Všechna tato krátká slova by měla být na novém řádku.
- Na konci jednotlivých experimentů v kapitole „Výsledky“ je vždy krátké shrnutí, co bylo danou metodikou zjištěno, ale u jednotlivých látek by měly být pro větší přehlednost (snazší orientaci) uváděny i kódy VUFB.
- Celá kapitola „Diskuze“ obsahuje budoucí vize terapeutického využití agonistů CAR. Je to velmi zajímavý text dokazující, že autor je schopen logických úsudků a aplikace poznatků farmakologie, ale zcela nenaplnil obsah a funkci této kapitoly ve vztahu k hodnoceným látkám. Tento text by se hodil spíše do teoretického úvodu. Domnívám se, že by bylo vhodnější, kdyby se autor spíše zamyslel nad příčinou toxicity některých testovaných derivátů, resp. pokusil se najít vztahy mezi strukturou a účinkem ve skupině hodnocených sloučenin.

Otázky:

1. Proč jste tak zvláště zvolil číslování testovaných sloučenin? Některé jsou označeny i písmenem „B“ a ve vašich látkách chybí sloučenina pod číslem „5“?
2. Proč jste zvolil testovací koncentrační hladiny 4 a 20 μM ?
3. Z jakého důvodu jste po „gene reporter assay“ vyřadil z dalšího testování látku č. 6, když měla stejné nebo lepší výsledky než látka č. 2, kterou jste dál testoval?
4. Z jakého důvodu jste v metodě „two-hybrid assay“ vyřadil z testování látku č. 16?
5. Jaký fragment testovaných molekul pravděpodobně způsobuje vyšší cytotoxicitu?
6. Jaký strukturální fragment/jaké strukturální fragmenty by měly být přítomny ve sloučeninách, aby vykazaly agonistický efekt k lidskému CAR.

ZÁVĚR

Přes uvedené připomínky a doplňující otázky lze konstatovat, že se rigorózní práce zabývá velice zajímavým a aktuálním tématem a splňuje veškeré náležitosti a kriteria, a proto ji **DOPORUČUJI** k obhajobě.

V Praze, dne 27. srpna 2010

doc.1