

Posudek na disertační práci RNDr. Jitky Křížkové

Effects of chemopreventive compounds on cytochrome P450s

Předkládaná disertační práce se zabývá velmi aktuální tématem studia látek nazvaných souhrnně chemopreventivní, které jsou přítomny v potravinách a potravinových doplňcích. Tyto látky jsou pro celou řadu svých příznivých účinků na lidské zdraví v současné době doporučovány jako prevence vzniku např. kardiovaskulárních či nádorových onemocnění. Tyto účinky chemopreventivních látek z přírodních zdrojů jsou neoddiskutovatelné a jistě přínosné pro naše zdraví, ovšem je potřeba brát v úvahu i jejich možné nežádoucí či dokonce případné škodlivé účinky, které rovněž mohou v lidském organismu vyvolávat. A právě výzkumu účinků chemopreventivních látek v procesu karcinogeneze se práce věnuje. Konkrétně jsou sledovány interakce celé skupiny flavonoidů a non-flavonoidů s významnou skupinou enzymů metabolizujících xenobiotika cytochromů P450, jejichž aktivitu mohou inhibovat či indukovat, stejně jako ovlivňovat hladinu jejich exprese. Vzhledem k tomu, že indukce některých CYP (CYP1A1/2) může vést k aktivaci karcinogenů a významně tak zvyšovat riziko rozvoje nádorových onemocnění, jsou studie chemopreventivních látek, při dnešním důrazu na volbu vyvážené stravy a zdravého životního stylu, v tomto směru velmi žádoucí.

Nové informace, které disertace přináší, rozšiřují naše znalosti o působení chemopreventivních látek v *in vivo* podmínkách. Byly nalezeny účinné induktory aktivit a exprese CYP1A podrodiny z řad flavonoidů a non-flavonoidů (např. β -naftoflavon a diallyl sulfid) v játrech i střevech pokusných zvířat a dopady tohoto působení v procesu karcinogeneze. Z práce vyplynula řada podnětů pro další detailní studium chemopreventivních látek a jejich působení v lidském organismu s ohledem na bezpečnost jejich neomezeného užívání a konzumace.

Hlavní pozitiva disertační práce.

Úvod je velmi pěkně koncipován jak obsahově tak formálně. Předkládá přehledný náhled studované problematiky, tj. cytochromů P450 jako významných enzymů podílejících se na metabolismu xenobiotik, ale i jejich účasti v procesu karcinogeneze. Velmi pěkně a detailně je zpracována kapitola zabývající se výčtem, výskytem, metabolismem i biologickými účinky flavonoidů a non-flavonoidních látek, z nichž celá řada byla v dané práci použita. Úvod je doplněn řadou názorných obrázků a schémat, které vhodně doplňují zpracované literární údaje.

Cíle práce jsou jasně stanovené, vyplývají z informací v úvodní části a navržený postup je v souladu s moderní vědeckou praxí.

Z metodického hlediska jsou v práci využity jak klasické tak i moderní metodiky, jmenovitě např.: purifikace enzymů P450 z mikrosomů různými režimy premedikovaných pokusných zvířat, elektroforetické dělení proteinů s následným imunoblottingem či studium enzymových aktivit vybraných CYP. V práci je zařazena rovněž značně náročná metoda ³²P-Postlabelling, která je na pracovišti Biochemie PřF UK s úspěchem využívána.

Výsledková část s jasně formulovanými závěry a bohatým grafickým doprovodem ukazuje, že autorka udělala velký kus práce. Pět přijatých a další připravovaná publikace v časopisech s impakt faktorem ukazují, že disertace má nadprůměrné výstupy. Zpracování

výsledků a jejich prezentace jsou na vynikající úrovni. Studie působí harmonicky a je pečlivě vypracovaná po stránce faktické i formální. Zároveň poskytuje dostatek podnětů k diskusi a zamyšlení nad možnými interpretacemi výsledků a jejich dalším využitím, což je dalším důkazem vysoké kvality výzkumu i celého vědeckého týmu.

Disertační práce je vypracována pečlivě, napsána velmi dobrou angličtinou a zcela splňuje svoji funkci.

K práci mám následující připomínky a dotazy:

1/ Flavonoidy a non-flavonoidy jsou známy svými antioxidačními účinky, díky kterým jsou doporučovány jako prevence nemocí spojených s oxidativním poškozením membrán, proteinů a DNA. Můžeme se ale za jistých okolností setkat i s prooxidačním působením těchto látek?

2/ Sledovala jste během Vašeho doktorského studia vliv chemopreventivních látek na další podrodiny CYP a bylo případně možné vysledovat nějaký trend nebo naopak výrazné rozdíly v působení flavonoidů a non-flavonoidů na jednotlivé podrodiny CYP?

3/ Na základě čeho byly vybrány dávky chemopreventivních látek aplikovaných potkanům v jednotlivých režimech uvedených v kapitole 3.3.1.?

4/ Čím si vysvětlujete výraznou indukci aktivity CYP1A1/2 jednorázovou dávkou β -naftoflavonu již po 24hod a následný pokles, když se zpravidla účinek chemopreventivních látek zvyšuje a maximální bývá a to i v případě β -naftoflavonu v tenkém střevě po 72hod od aplikace (kap 4.3.3.)?

Drobné formální připomínky:

- Kapitola 1.1.6. – 1.1.8. V případě CYP1A podrodiny cytochromů P450 jsou velmi pěkně uvedeny ve formě tabulky substráty, inhibitory i induktory enzymů této podrodiny. Následující dvě podrodiny 2B a 3A jsou shrnuty poměrně stručně a zejména podrodina CYP3A zde uvedená by si rovněž zasloužila podrobnější shrnutí jejich substrátů a látek ovlivňujících jejich aktivitu se zaměřením na právě flavonoidní látky, z nichž některé velmi významně aktivitu CYP3A podrodiny ovlivňují.
- Výsledková část, Kapitola 4.3.1., strana 65: text na této straně bych doporučila zařadit před obrázky 4.9 a 4.10 uvedené na str. 63 a 64. Řazení obrázků před informace, které ho vysvětlují je při čtení textu trochu matoucí.

Disertační práce RNDr. Jitky Křížkové zcela splnila svůj účel, protože autorka prokázala schopnost samostatné vědecké práce. Výsledky byly publikovány v kvalitních odborných časopisech.

Z těchto důvodů doporučuji předloženou práci k obhajobě a udělení titulu PhD.

V Praze 8.10.2010

RNDr. Radka Václavíková PhD.