

Posudek na disertační práci Mgr. Radka Indry

Mechanismus enzymové aktivace karcinogenů a léčiv systémem cytochromů P450

Předkládaná disertační práce se zabývá aktuální tématem metabolismu cizorodých látek především z pohledu jejich aktivace. Cílem disertační práce je studium složek biotransformačního enzymového systému, obsahujícího cytochromy P450, na environmentální polutant benzo(a)pyren a rostlinný alkaloid s protinádorovými účinky ellipticin. Dále se v práci sleduje vhodnost laboratorního potkana jako experimentálního modelu pro studium metabolismu benzo(a)pyrenu v lidském organismu.

V práci byly podrobně porovnávány účinky na metabolismus benzo(a)pyrenu pomocí jaterních mikrosomálních i rekombinantních systémů experimentálního modelu potkana, myších modelů s deletovaným genem pro protein p53 a lidských systémů. Detailně byly testovány schopnosti zmíněných systémů fungovat v přítomnosti nebo nepřítomnosti donorů elektronů potřebných pro redukci CYP1A1, a to konkrétně NADPH:cytochrom P450 reductasy a NADH:cytochrom b₅ reductasy. Z výsledků získaných v této práci vyplývá, že pro redukci CYP1A1 za současné oxidace benzo(a)pyrenu, mohou poskytovat elektrony systémy NADPH:CYP reductasy, ale i NADH:cytochrom b₅ reductasy, což zpřesnilo dosud obecně přijímaný mechanismus reakčního cyklu cytochromu P450.

Dále je v práci detailně popsán vznik aduktů s DNA po předchozí aktivaci benzo(a)pyrenu cytochromy P450, případně ve spolupráci s dalším významným enzymem epoxidhydrolasou, který hydrolyzuje epoxidy na dihydrodioly. V práci je přehledně sepsána a diskutována následná aktivační i detoxikační cesta metabolitů benzo(a)pyrenu.

Zvolené metodické přístupy, přehledné zpracování dosažených výsledků i literatury ukazují na schopnost autora získané výsledky využít k obecnějším závěrům a sepsání publikací. Autor přikládá 5 původních prací, na kterých se podílel z 30-90 %, z čehož jedna je k publikaci zaslána. Velmi pozitivně hodnotím spolupráci s několika zahraničními pracovišti, což umožnilo rozšířit znalosti v dané problematice včetně sepsání kvalitních prací otištěných v impaktovaných časopisech.

Předkládaná disertační práce poskytuje dostatek podnětů k diskusi a zamyšlení nad možnými interpretacemi výsledků a jejich dalším využití, což je dalším důkazem vysoké kvality výzkumu i celého vědeckého týmu.

K práci mám následující drobné připomínky:

- Celá práce se velmi detailně věnuje benzo(a)pyrenu, který je dle mého názoru v obecném úvodu popsán příliš stručně, zatímco ellipticin, kterého se práce týká minoritně, je popsán přibližně ve stejném rozsahu.
- Na str. 44 chybí podrobnější vysvětlivky v tabulce koncentrací proteinů izolovaných mikrosomů.
- Na str. 45 nejspíš chybí desetinná čárka v poměru CYP1A1RL a NADPH:CYP reductasy.

Dotazy:

- 1) Zkoušeli jste měřit koncentraci nebo aktivitu epoxidhydrolasy v použitých mikrosomech, případně dát tyto hodnoty do korelace se získaným množstvím metabolitů benzo(a)pyrenu?
- 2) Existuje zvířecí experimentální model, kde by byl enzym epoxidhydrolasa deletovaný?
- 3) Uvažovali jste o měření exprese genu *p53* na úrovni mRNA nebo jiného tumor supresorového genu, který by mohl hrát roli v aktivační cestě karcinogenů, jako je benzo(a)pyren?
- 4) Přemýšleli jste nad provedením stejné komplexní studie u jiného karcinogenu?

Práce dle mého názoru splňuje všechny požadavky kladené na doktorskou disertační práci, a proto ji plně doporučuji k obhajobě pro získání titulu PhD.

V Praze dne 13. 5. 2015

RNDr. Jitka Koblihová, PhD.