

## Oponentský posudek na disertační práci **RNDr. Ivety Mrízové**

**Téma práce: Úloha systému oxidas se smíšenou funkcí s cytochromem P450 v metabolismu léčiv a karcinogenů.**

Předkládaná disertační práce se věnuje zejména studiu aktivačních a detoxikačních reakcí protinádorového léčiva ellipticinu a karcinogenního environmentálního polutantu benzo[a]pyrenu. Disertační práce je postavena na sedmi impaktovaných publikacích a je psaná formou komentovaných článků. Autorka je na dvou z nich vedena jako první autor a na ostatních publikacích zaujímá 3. – 5. místo v pořadí autorů. U každé publikace je přesně specifikováno, jakým dílem se na ní autorka podílela.

Úvod práce obsahově pokrývá řešenou problematiku, včetně odkazů na literaturu i předchozí práce školitele a spolupracovníků. Čtenář je uveden do problematiky metabolismu xenobiotik cytochromy P450 a spolupracujícími enzymy. V textu se nachází několik drobných překlepů, které ale neovlivňují srozumitelnost textu. Následuje adekvátně stručný přehled použitých metod s odkazy na příslušnou literaturu a kapitola výsledky a diskuze, která je podpořená seznamem publikací.

Dvě z prezentovaných publikací jsou především přehledové články, které shrnují dosavadní výsledky a informace o podílu cytochromů P450 na farmakologickém účinku protinádorového léčiva ellipticinu. První z nich se zabývá tím, jak exprese studovaných proteinů (enzymů) ovlivňuje cytotoxicitu ellipticinu v devíti typech nádorových buněk. Druhá publikace je převážně souhrnným přehledem o metabolismu ellipticinu a porovnává data z experimentů *in vivo* a *in vitro*.

V další prezentované publikaci se autorka zabývá vlivem ellipticinu na expresi a aktivitu klíčových enzymů v cílových orgánech a jako modelový organismus byl využit laboratorní potkan. Práce poskytuje ucelený obraz, jak toto léčivo ovlivňuje jednotlivé složky MFO systému. Autorka se také zabývala funkcí málo prozkoumaného cytochromu P450 2S1, označovaného jako "orfánový". Protein byl v rámci práce připraven heterologní expresí a byly také připraveny protilátky proti dvěma "orfánovým" cytochromům P450 2S1 a 2W1. Protilátky byly následně využity ke studiu vlivu těchto dvou enzymů na metabolismu uvedených xenobiotik. Disertační práce se také detailně věnuje metabolismu environmentálního polutantu benzo[a]pyrenu, který je hlavní složkou cigaretového kouře, a to jak přístupy *in vivo*, tak také *in vitro*.

Celkově se jedná o zajímavé téma disertační práce a samotná práce obsahuje několik důležitých výsledků. Já osobně považuji za nejzajímavější v první řadě výsledky ze studie, že zánět v plicní tkáni může inhibovat aktivitu enzymů a hrát tak důležitou roli v genotoxicitě polycyklických aromatických uhlovodíků. Z prezentovaných výsledků vyplývá, že v přítomnosti zánětu v plicích sledovaných zvířat, dochází ke zvýšené tvorbě aduktů DNA s benzo[a]pyrenem. Dále také potvrzení hypotézy, že se cytochrom P450 2S1 podílí na oxidaci substrátu tzv. peroxidázovou reakcí a vyzvihuji také úspěšnou přípravu anti-peptidové protilátky pro snadnou detekci tohoto proteinu. Z těchto důvodů plně doporučuji předkládanou disertační práci k úspěšnému obhájení.

Na závěr bych si dovolila několik otázek na RNDr. I. Mrízovou:

### **Příloha č. 1**

Otázka č.1: V této práci jste mimo jiné také analyzovala expresi cytochromu b5 v mikrosomech izolovaných z jater, ledvin a plic laboratorního potkana. Na obrázku uvedeném pod číslem 17 (str. 55) uvádíte výsledky ze dvou metod: Western blot a spektrofotometrického stanovení. Výsledky těchto dvou použitých metod v ledvinách a plicích úplně nekorespondují. Mohla byste říci, jak si tyto rozdíly zdůvodňujete?

Otázka č.2: Na straně 57 v textu uvádíte, že v jaterních mikrosomech potkana po premedikaci ellipticinem, došlo k signifikantnímu zvýšení tvorby "aktivačních metabolitů" 13-hydroxy a 12-hydroxyellipticinu nejen indukci CYP1A1/2 a cytochromu b5, ale také indukci podrodiny CYP3A. Dle mého názoru, podle grafu na obrázku 16B (str. 54), kde je zobrazena aktivita CYP3A, nedošlo po premedikaci ellipticinem k výraznému (signifikantnímu) zvýšení aktivity CYP3A. Můžete prosím toto tvrzení detailněji objasnit?

### **Příloha č. 7**

Otázka č. 3: Ve Vaší práci se zabýváte také tím, že CYP2S1 může při katalytickém cyklu využívat nejen NADPH:cytochrom P450 reduktázu, ale naopak jsou favorizované peroxidy. Předpokládám, že je to tedy možné i u jiných cytochromů P450. Je známo, že by tento krok (*zda bude při katalýze využita reduktáza nebo peroxid*) mohl mít vliv na "složení/zastoupení" vznikajících metabolitů z daného xenobiotika? Myslím tím, zda např. při katalytickém cyklu s NADPH:cytochrom P450 reduktázou vznikají ve vyšší míře metabolity detoxikačního rázu či naopak?

V Praze dne 3.6.2016

RNDr. Kateřina Levová, Ph.D.