



Univerzita Karlova v Praze, 1. Lékařská fakulta
Klinika dětského a dorostového lékařství
Laboratoř pro studium mitochondriálních poruch
Ke Karlovu 2, 128 08 Praha 2
Tel./ Fax: + 420 224 967 099

Oponentský posudek na doktorskou disertační práci RNDr. Ivety Mrízové

„ Úloha systému oxidas se smíšenou funkcí s cytochromem P450 v metabolismu léčiv a karcinogenů“

Téma předkládané práce je vysoce aktuální, protože se podílí na řešení otázek týkajících se jedné z prioritních oblastí výzkumu ve zdraví populace – onkologickou problematikou. Hlavními cíli předkládané disertační práce bylo rozšíření současných znalostí v oblasti metabolismu protinádorového léčiva ellipticinu a karcinogenního Benzo[a]pyrenu (BaP).

Předkládaná práce je zaměřena na pochopení mechanismů působení rostlinného alkaloidu ellipticinu v roli protinádorové látky včetně sledování vlivu ellipticinu na expresi a aktivitu jednotlivých složek mikrosomálního monooxygenázového systému v různých tkáních potkana i míra cytotoxicity na různé typy nádorových linií u člověka. Bylo zjištěno, že ellipticin indukuje potkaní cytochromy CYP1A1/2, CYP3A a cytochrom b_5 , což vede ke zvýšení jejich aktivity a produkci detoxifikačních i aktivačních metabolitů s následným vznikem aduktů s DNA. Vedle toho bylo prokázáno, že zvýšená exprese cytochromu b_5 může modulovat bioaktivaci karcinogenů BaP a Sudanu I pomocí P450.

Součástí disertační práce byl i velice zajímavý soubor experimentálních prací věnujících se cytochromu P450 2S1, jehož vlastnosti zatím neznáme, a to včetně přípravy tohoto proteinu heterologní expresí v *E. coli*, analýzy jeho metabolických vlastností a přípravě protilátky proti němu. Bylo prokázáno, že tento cytochrom metabolizuje ellipticin a metabolity BaP bez účasti cytochrom P-450 reduktázy s využitím peroxidu. Významné je potencionální využití protilátky proti CYP2S1 jako diagnostického a prognostického markeru pro karcinom pankreatu.

Součástí práce byla i studie zaměřená na ovlivnění metabolismu xenobiotik ve stavu zánětlivého onemocnění plic, kde bylo prokázáno, že toto onemocnění může inhibovat enzymovou aktivitu CYP1A1 a následně v plicích vést k poškození DNA vznikem aduktů s DNA.

Doktorandka uplatnila při řešení problematiky racionální přístup, prokázala, že ovládá široké spektrum experimentálních metod a přístupů včetně práce s laboratorními zvířaty, biochemických purifikačních metod, kultivace buněk, expresních metodik, imunoelektroforetických a enzymatických metod a řadu dalších.

K posouzení předložila úctyhodnou sérii výsledků, z nichž za významné považuji zejména tyto:

- Unikátní informace o dosud neprostudovaném CYP 2S1
- Výsledky studia koincidence onkologického onemocnění s jinými chorobami (zde zánětlivé onemocnění plic), která v širším kontextu má dalekosáhlý význam v léčebném přístupu k chronicky nemocným pacientům.



- Potvrzení o indukci cytochromu b_5 pomocí různých xenobiotik a z toho vyplývající efektivnější metabolismus cizorodých látek

Na základě výsledků shrnutých v předložené práci, ale i souboru předložených publikací mohu konstatovat, že cíle doktorské práce byly splněny. Celá práce svědčí o velké teoretické a metodické zdatnosti autorky a o její pílí a afinitě k vědecké práci. Přináší zcela nové poznatky v oblasti xenobiochemie. Autorka svou prací prokázala způsobilost k tvůrčí vědecké činnosti. Chtěla bych vyzdvihnout mimořádný experimentální rozsah předkládané práce a tomu odpovídající množství hodnotných výsledků.

K formální stránce: Předkládaná disertace představuje soubor 7 původních prací publikovaných v časopisech s IF. U 2 z nich je doktorandka první autorkou. Doktorská práce je psána v českém jazyce. Publikacím předchází velice čtivý komentovaný přehled, který nezabíhá do zbytečností a má obvyklou skladbu: Úvod a literární přehled, cíle, materiál a metody. Výsledky a diskuze jsou rozděleny do 7 kapitol podle publikace, ke které se vztahují. V každé kapitole autorka uvádí vlastní podíl prací na dané publikaci. Kapitoly jsou doplněny 25 obrázky a grafy, které ilustrují jednotlivé výsledky. V textu je minimum překlepů. Práce cituje více než 200 literárních zdrojů. Autoreferát je stručný a přehledný a splňuje svůj účel.

K předložené práci mám drobné formální připomínky a tyto dotazy:

Str. 46 Cíle práce - bylo by vhodnější formulovat cíle ve smyslu „čeho má být dosaženo“. Autorka má tuto kapitolu koncipovanu spíše jako stručné shrnutí výsledků

Obecně – kvalita popisků obrázků (např. obr 15, 18, 22) by mohla být ve vyšším rozlišení, obzvláště, když jsou to obrázky z publikací

V úvodu se autorka zmiňuje o akumulaci elliptcinu v mitochondriích. Může se autorka podrobněji zmínit o mechanismech inhibice oxidační fosforylace v této souvislosti ?

Velice mě zaujal Cytochrom CYP 2S1. Jaké máte v plánu další experimenty k rozšíření znalostí o tomto enzymu s nepopsanými vlastnostmi?

Ukázalo se, že zánětlivé onemocnění plic vede k zhoršení dopadu metabolismu xenobiotik v plicích u potkana. Existují práce, které by tuto souhru faktorů popisovaly u člověka? Jsou literární údaje o vlivu přítomnosti jiného onemocnění na vznik/rozvoj karcinomu v tkáních u modelů/člověka?

Závěr: Po stránce aktuálnosti řešeného problému, metodického přístupu, množství získaných nových poznatků a jejich významu jde o vynikající doktorskou disertační práci. Autorka prokázala potřebné odborné vědomosti i schopnost samostatné vědecké práce. Na základě uvedených skutečností doporučuji, aby byla doktorská disertační práce přijata k obhajobě a

aby byla RNDr. Ivetě Mrízové udělena vědecká hodnost „PhD“.

V Praze 31.5.2016


RNDr. Hana Hansíková, CSc

