

Oponentský posudek na diplomovou práci Evy Martínkové

V diplomové práci nazvané **“Oxidation of the Anticancer Drug Ellipticine by Rat and Human Cytochromes P450”** se autorka na 89 stranách zabývá zajímavou a z hlediska biomedicíny přínosnou problematikou, která přispívá k poznání metabolismu protinádorového léčiva elipticinu. Poznání mechanismu působení tohoto léčiva je významné pro přípravu derivátů elipticinu s vyšší farmakologickou účinností. Předkládaná práce byla konkrétně zaměřena na zjištění, s jakou účinností oxidují elipticin jednotlivé rekombinantní cytochromy P450 potkana a člověka.

Při práci na tomto tématu projevila autorka schopnost dobře se orientovat v problematice CYP jaterní tkáně potkana a člověka. Z pohledu metodologického je práce poměrně rozmanitá. Eva Martínková izolovala mikrosomální frakce z jater potkana, v nichž spektroskopicky určila obsah CYP. Dále za využití HPLC optimalizovala podmínky přípravy a izolace standardu jednoho z metabolitů elipticinu, konkrétně 13-hydroxyelipticinu. Pomocí HPLC také studovala vliv jednotlivých cytochromů P450 na oxidaci elipticinu.

Práce je přehledně členěna a stránkový rozsah jednotlivých oddílů je vyvážený. Úvod, který je srozumitelně a logicky sepsán, seznamuje čtenáře se základními pojmy a současným stavem znalostí ve studované oblasti. Výsledky jsou prezentovány formou grafů a tabulek, z nichž je zřejmé, k čemu autorka v práci dospěla. Textový doprovod je dostatečný a srozumitelný. Diskuse odpovídá získaným výsledkům. Součástí práce je i závěr stručně sumarizující dosažené výsledky. Diplomová práce obsahuje 131 literárních odkazů, jejichž prezentace je v souladu s požadavky na uvádění citované literatury. Práce je vypracována v anglickém jazyce velmi pečlivě a je patrné, že autorka tento jazyk velmi dobře ovládá. Diplomová práce je téměř bez překlepů a opomenutí.

Z hlediska odborné úrovně a zpracování předkládanou diplomovou práci hodnotím jako kvalitní. Práce vyhovuje pracem obdobného charakteru, a proto ji plně doporučuji k obhajobě a hodnotím ji známkou výborně.

K práci mám následující připomínky a dotazy:

1. V některých tabulkách není součet procent roven přesně stu, např. tab. 11, str. 55 je v řádku pro 200 nM CYP součet roven 90% (totéž platí pro tab. 18 na str. 62 v posledním řádku). V tab. 26 na str. 71 je pro koncentrace 50 nM CYP/150 nM cyt b₅ součet roven 98%.
2. V textu na str. 65 je uvedeno, že za přítomnosti cytochromu b₅ došlo k významné stimulaci oxidace elipticinu, ale podle grafu 43 při 10 nM koncentraci CYP u metabolitů M3+M4 nebyl tento efekt pozorován.
3. V textu je uvedeno, že při oxidaci elipticinu účinkem potkaního rekombinantního CYP2D1/2 nevzniká metabolit M4, přesto je tento metabolit M4 uveden v tab. 18 na str. 62, která vyjadřuje procentuální zastoupení jednotlivých metabolitů elipticinu vzniklých účinkem právě CYP2D1/2.
4. Oxidace elipticinu lidskými CYP1A a 1B byla prováděna se třemi různými koncentracemi (10, 20 a 50 nM) CYP, zatímco další experimenty s ostatními lidskými cytochromy P450 byly provedeny pouze při nejvyšší koncentraci enzymu. Proč autorka vybrala právě CYP 1A a 1B k porovnání koncentrační závislosti enzymu na oxidaci elipticinu?
5. Kolikrát byly jednotlivé experimenty opakovány, pokud tomu tak bylo?
6. Elipticin se zdá být účinným cytostatikem, aktivují elipticin pouze CYP nebo i jiné enzymy?

V Praze, 22. 5. 2006

RNDr. Kristina Forsterová

