

Oponentský posudek diplomové práce Jany Mizerovské nazvané „Studium metabolismu 3-aminobenzanthronu, redukčního metabolitu karcinogenního 3-nitrobenzanthronu“

Diplomová práce Jany Mizerovské se zabývá velice vážnou a aktuální problematikou toxického působení aromatických aminosloučenin na živé organismy. Konkrétně se jednalo o studium metabolismu a fyziologických účinků sloučeniny 3-aminobenzanthronu (3-ABA), která je potenciálním karcinogenem pro živočišné organismy.

Studie se zaměřuje především na studium, jak aktivační cesty metabolismu 3-ABA, tak i možné detoxikační metabolické cesty. Oxidace 3-aminobenzanthronu jaterními mikrosomálními systémy byla sledována v závislosti na: době inkubace této látky s mikrosomy, změně koncentrace 3-aminobenzanthronu v reakční směsi, změně pH reakčního prostředí.

Úvodní část je uceleným přehledem o vzniku a mechanismu kancerogeneze, biotransformaci cizorodých látek. Dále se seznamujeme s enzymovou funkcí cytochromů P450, katalysujících biotransformaci xenobiotik a s možností regulace hladin těchto enzymů. Nakonec nás autorka informuje o závažnosti působení aromatických aminů na lidský organismus. Názorná schémata a obrázky, kterými Jana Mizerovská obohatila úvodní část diplomové práce, vhodně doplňují zpracované literární údaje.

V metodické části se seznamuje se způsobem premedikace laboratorních potkanů a následně s izolací subcelulární frakce z jaterní tkáně potkanů. Po stanovení koncentrace proteinů a obsahu cytochromu P450 v mikrosomální frakci jaterní tkáně potkanů, následovala příprava inkubačních směsí a příprava vzorků pro HPLC. Pomocí této metody byly separovány metabolity 3-ABA.

Z výsledků uvedených v diplomové práci je patrné, že zadané téma bylo řešeno úspěšně a vytyčené cíle byly splněny. Práce přináší řadu zajímavých výsledků. Studium metabolismu 3-aminobenzanthronu zprostředkovaného třemi jaterními mikrosomálními systémy, obsahujícími cytochromy P450, se podařilo zjistit, že tato aromatická sloučenina je oxidována za vzniku tří metabolitů. Jedním z metabolitů je oxidační prekurzor 3-ABA, 3-nitrobenzanthron. V závěrečné části je uvedený efektivní oxidující mikrosomální systém, který tuto sloučeninu (3-ABA) aktivuje. Dále pak mikrosomální systém u kterého se předpokládá detoxikační metabolická cesta 3-aminobenzanthronu.

Dle mého názoru tato práce obsahuje mnoho zajímavých poznatků a výsledků významných zejména pro další studium této problematiky.

Po formální stránce je práce členěna obvyklým způsobem. Je přehledně a srozumitelně vypracována, doplněna názornými schématy, přehlednými tabulkami a grafy.

K práci mám následující dotazy a připomínky:

1. str.51: Na obr. 19 je znázorněna oxidace 3-ABA jednotlivými typy jaterních mikrosomů potkana indukovaného β -naftoflavonem, fenobarbitalem a mikrosomy nepremedikovaného potkana. Doba inkubace reakční směsi byla 120 minut. Jde o údaj nalezený v literatuře nebo byla vybrána optimální doba inkubace reakční směsi z dosažených výsledků uvedených v kapitole 4.1.2.?
2. str.55, 57: Na obr. 23, 25 je znázorněna závislost oxidace 3-ABA jaterními mikrosomy potkana premedikovaného fenobarbitalem a kontrolního (nepremedikovaného) potkana v závislosti na době inkubace. Zajímalo by mě, proč v uvedených obrázcích není znázorněn metabolit M18 u kontroly bez mikrosomů a zda k tvorbě metabolitu M18 docházelo.

3. Str. 71: Ze získaných výsledků zobrazených na obr.41, str.72 (oxidace 3-ABA jaterními mikrosomy potkana indukovaného β -naftoflavonem v závislosti na změně pH prostředí) a na obr.42 str.73 (oxidace 3-ABA jaterními mikrosomy potkana indukovaného fenobarbitalem v závislosti na změně pH prostředí) vyplývá, že k největší přeměně 3-ABA došlo při pH 7,4. Maximální tvorba 3-NBA byla pozorována při pH prostředí 5,4. Jak si autorka vysvětluje maximální tvorbu 3-NBA při takovém pH prostředí?
4. Při psaní nadpisů diskuse a shrnutí a závěr bylo použito obyčejné písmo místo tučného a jiné zarovnání než v případě ostatních nadpisů v diplomové práci. Doporučovala bych sjednocení typu písma a zarovnání všech nadpisů.
5. Doporučovala bych sjednotit psaní s a z v cizích slovech. Názvy enzymů jsou psané ‚krátce‘ s koncovkou -asa, takže bych slova uvedená v textu jako např. hydrolýza, stabilizace, expanze apod. psala se s (hydrolysa, stabilisace, expanse).

Závěrem mohu konstatovat, že diplomová práce Jany Mizerovské dle mého názoru splňuje požadavky kladené na práce obdobného typu. Proto ji plně doporučuji k obhajobě a k dalšímu řízení a hodnotím ji známkou výborně.

V Praze 14.5.2006

Mgr. Pavla Kadeřábková

Mgr.

[Redacted signature]