

**UNIVERZITA KARLOVA
FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ**

Katedra farmakologie a toxikologie

Studijní program: zvolte program

Posudek oponenta zvolte typ práce

Rok obhajoby: 2021

Autor/ka práce: **Zuzana Sobolová**

Vedoucí práce: Prof. PharmDr. Přemysl Mladěnka, Ph.D.

Konzultant/ka: Mgr. Marcel Hrubša

Oponent/ka: PharmDr. Eduard Jirkovský, Ph.D.

Název práce: **Vplyv syntetických chelátorov zo skupiny 4-acylpyrazol-5-ónu na alkoholdehydrogenázu**

Rozsah práce: 68 stran, 37 obrázků, 6 tabulek, 59 citací

Hodnocení práce:

- | | |
|--|---------------|
| a) Odborná úroveň a zpracování teoretické části: | výborné |
| b) Náročnost použitých metod: | velmi dobrá |
| c) Zpracování metodické části (přehlednost, srozumitelnost): | velmi dobrá |
| d) Kvalita získaných experimentálních dat: | výborná |
| e) Zpracování výsledků (přehlednost, srozumitelnost): | výborné |
| f) Hodnocení výsledků včetně statistické analýzy: | velmi dobré |
| g) Myšlenková úroveň a rozsah diskuse výsledků: | výborné |
| h) Srozumitelnost, výstižnost a adekvátnost závěrů: | výborná |
| i) Splnění cílů práce: | zcela splněny |
| j) Množství a aktuálnost literárních odkazů: | výborné |
| k) Jazyková úroveň (stylistická a gramatická úroveň): | výborná |
| l) Formální úroveň práce (členění textu, grafické zpracování): | výborná |

Doporučuji diplomovou práci k uznání jako práci rigorózní

Dotazy a připomínky:

1. V teoretickém úvodu autorka nešťastně zaměňuje pojmy kofaktor a koenzym, u popisu terciární struktury je popisována převážně kvartérní struktura. Pro přehlednost bych vytvořil vlastní podkapitulu pro koňskou ADH, zejména pokud je přímo používána v práci.
2. Chybí mi přesnější vyjádření účinku acetylsalicylové kyseliny, paracetamolu a H₂ blokátorů s ohledem na porovnání s fomepizolem. Je škoda, že tyto látky nejsou v práci použity alespoň pro doplnění vztahu struktury-účinku.
3. Nesouhlasím s konstatováním, že fomepizol má malou incidenci nežádoucích účinků (zmiňováno je 12 %; str. 25, třetí odstavec) a o stránku dále, že „nemá takmer žiadne vedľajšie účinky“. Nežádoucí účinky objevující se u více jak 10 % pacientů jsou považované za „velmi časté“ - tedy s největší četností, co se deklaruje. Formulace, že „nežádoucí účinky fomepizolu jsou velmi časté, ale jsou mírného charakteru a nejsou život ohrožující“ by byla lepší.

4. Pro přehlednost bych zvolil označení studovaných látek římskými číslicemi místo použitého kódu s horním indexem. Nepřijde mi přehledné dávat tu nejdůležitější část informace do horního indexu a pokoušet ostražitost čtenáře.
5. Popis metodiky je přehlacen nepodstatnými podrobnostmi, naopak postrádá důležité informace, jako je čistota použitých chemikálií a enzymů, nebo alespoň uvedení jejich katalogového čísla.
6. Grafická a typografická úprava kapitoly „Matematická a statistická analýza“ je velmi slabá, nezapadá do úrovně celé práce. Navíc jsem tu autorka nezmínila několik důležitých podrobností:
 - a. Počet opakování jednotlivých experimentů („n“), tedy z kolika měření se nakonec skládal výsledný jeden bod zobrazený na grafech?
 - b. Jakou metodou byla vypočítána nelineární regrese u grafů enzymové inhibice a jaké byly hodnoty R^2 , ze kterých byl pak počítán 95% CI v programu GraphPad?
 - c. Porovnáváte směrnice „přímky“ a vycházíte z absorbance v čase 0. Lineární nebo konstantní „směrnice“ hned od počátku nejsou u enzymových reakcí moc obvyklé. Jaký byl algoritmus výběru „lineární části“ průběhu reakce? Byl zde patrný rozdíl mezi pracovním postupem 1 a 2?
7. Pozor na zobecňování závěrů z dosažených výsledků. Látky byly testovány pouze v arbitrárně určených koncentracích. Zejména s ohledem na fomepizol, který u kvasinkové ADH v testovaném rozmezí vůbec neinhibuje ADH. To bychom tedy museli jedinou klinicky používanou látku označit za neúčinnou, což evidentně není správné.
8. Při hodnocení korelace schopnosti chelatovat zinek a inhibovat ADH navrhuje autorka testovanou hypotézu na základě negativního Pearsonova korelačního koeficientu. Mnohem správnější důvod pro „odmítnutí“ této hypotézy spatřuji v dosažených hodnotách „ r^2 “ a „p“ naznačující, že tam vůbec žádný vztah nebyl nalezen. Osobně bych viděl smysluplnější korelovat hodnoty IC_{50} , ale to je koncepční poznámka, ne pro autorku.
9. První odstavec diskuze patří do teoretického úvodu. Uvedení výsledků korelační analýzy je v kontextu předcházejícího textu matoucí (str. 58, 4. odstavec), stejně jako proč testované látky neinteragovaly se zinkem přes dusíky na pyrazolovém jádře (str. 59, 3. odstavec). Nicméně, diskuze jako celek je velmi zajímavá, včetně strukturních rysů nezbytných pro inhibici ADH. Oceňuji také prostorové porovnání struktur studovaných látek ve vztahu k inhibici.

Doplňující otázky:

1. Definice centrální jednotky molekuly ADH (str. 16, poslední věta druhého odstavce) - jaké „domény“ máte přesně na mysli?
2. Jsou nějaké alkoholdehydrogenázy, které se vyskytují i jako monomer?
3. Můžete ve stručnosti osvětlit katalytický cyklus u alkoholdehydrogenáz, které neobsahují zinek či jiný kovový prvek.
4. Co je známo o schopnosti fomepizolu chelatovat zinek, nebo lépe řečeno „koordinovat“ volné redox aktivní elektronové páry zinku?

Hodnocení: práce je: výborná

k obhajobě: doporučuji

V Hradci Králové

26. května 2021

podpis oponenta/ky