



Posudek na dizertační práci Mgr. Lucie Škárýdové

“Role reduktas v nádorovém onemocnění“

Předkládaná práce popisuje některé teoretické a zejména experimentální aspekty purifikace a charakterizace karbonylreduktas a jejich význam v nádorovém onemocnění. Práce je přehledně členěna a podává ucelený pohled nejen na roli karbonylreduktas ve fázi vzniku nádorového onemocnění ale i ve fázi terapie. V práci je mj. zmíněna jejich účast při tvorbě růstových faktorů regulujících buněčnou proliferaci, v rozvoji rezistence nádorových buněk k antracyklinovým antibiotikům nebo naopak účast při detoxifikaci karcinogenních látek. Úvodní teoretická část podává dostatečný přehled o dané problematice. Ačkoliv je skupina redukčních enzymů, konkrétně karbonylreduktas heterogenní a jejich účinky a účast v metabolismu buňky nebyly doposud jednoznačně definovány, je část charakterizující tyto biologicky aktivní látky zpracována přehledně a systematicky, vždy s odkazem na recentní odborné publikace. Autorka zmiňuje více jak 150 článků věnujících se danému tématu. Po formální stránce je práce sepsána pečlivě. Text je psán srozumitelně, působí kompaktním dojmem.

Hlavní cíle práce byly jednoznačně vymezeny, i) nalezení silného a dostatečně selektivního inhibitoru ze skupiny flavonoidů, ii) purifikace a charakterizace nové mikrosomální karbonylreduktasy s účinkem na metabolismus oracinu.

Autorka prokázala schopnost dobře se orientovat v řešené problematice, aktivně řešit dílčí kroky výzkumu. Experimentální část je velmi pečlivě a přehledně popsána a logicky vede jednotlivými kroky izolace a purifikace karbonylreduktasy a stanovení základních parametrů enzymové aktivity. Autorka prokázala schopnost prakticky využívat širokého spektra metodik. Dnes běžně používané postupy a metody tvůrčím způsobem modifikovala a optimalizovala s cílem dosáhnout maximální účinnosti bez vlivu na konečnou aktivitu karbonylreduktas.

O kvalitě a významnosti dosažených výsledků svědčí jejich publikování v mezinárodních časopisech *Chemico-Biological Interactions* a *Toxicology*. Dvě další práce jsou připraveny k publikaci. Dizertantka je vždy první autorkou. Výsledky své práce dizertantka aktivně prezentovala na mezinárodních konferencích, tak jak je uvedeno v jejím profesním životopise.


V další části posudku uvedu pouze drobné připomínky a náměty k diskuzi.

- U spekter HPLC bych doporučila uvádět základní informace o koloně, její náplni a podmínky separace (obr. 21). V práci postrádám chromatogramy, tj. záznamy separace na Q-Sepharose nebo HIC koloně (kap. 5.2.2.1., kap. 5.2.2.2). V experimentální části není u separačních metod uveden typ detektoru, tzn. že pro všechny metody HPLC popsané v dizertační práci byl stejný fluorescenční detektor?
- U elektroforeogramů (obr. 30, 31) chybí pro lepší orientaci informace o porozitě použitého gelu a Mr vybraných proužků.
- V jakém množství a čistotě musí být nový enzym připraven, aby bylo možné ho identifikovat metodou MS. Jaký typ hmotnostní spektrometrie by dizertantka zvolila pro průkaz a identifikaci nové karbonylreduktasy a proč?
- Na straně 27 a 29 autorka zmiňuje možnost kombinovat terapii nádorového onemocnění antracyklinovými cytostatiky s inhibitory karbonylreduktas. Proběhla již nějaká studie, klinické testy nebo se jedná pouze o jednu z uvažovaných možností zásahu do proliferace nádorových buněk?
- Na straně 33 autorka popisuje klonování, expresi a purifikaci rekombinantní AKR1C3. Uvádí, že se na jeho přípravě osobně nepodílela. Zajímá mne, kde byla příprava proteinu realizována, zda na stejném pracovišti v rámci výzkumné spolupráce nebo na jiném pracovišti či formou služby.
- Na straně 26 dizertantka uvádí, že redukcí na pozici 13 je daunarubicin a doxorubicin deaktivován, ale kardiotoxicita u nich naopak stoupá. Prosím dizertantku o vysvětlení příčiny jejich zvýšené kardiotoxicity.
- Jak si autorka vysvětluje vysoký inhibiční efekt např. 7-hydroxyflavonu nebo 2'-hydroxyflavanonu ve srovnání s ostatními testovanými látkami (str. 45).

Závěrem bych chtěla konstatovat, že předložená práce dokladuje schopnost autorky úspěšně řešit složité vědecké problémy, využívat nejmodernější postupy a přístupy a tvůrčím způsobem vyvíjet nové. Dizertantka splnila beze zbytku vytčené cíle. Autorka dospěla k zajímavým a podnětným výsledkům. Její vědecká i publikační aktivita je v souladu s požadavky pro úspěšné obhájení a ukončení postgraduálního studia spolu s udělením titulu PhD.

Vzhledem k výše uvedenému doporučuji přijetí práce k obhajobě

V Pardubicích dne 18. listopadu 2009


doc. RNDr. Zuzana Bílková, Ph.D.
Univerzita Pardubice, FCHT
Katedra biologických a biochemických věd