



Praha, 31.8.2010

**Posudek oponenta na disertační práci Mgr. Romany Odiany Participation of selected carbonyl reductases in deactivation of anticancer drugs.**

Romana Odiana se ve své disertační práci zabývá reduktivním metabolismem protinádorových léčiv doxorubicinu a oracinu. Jedná se o téma závažné z hlediska vědeckého, společenského i ekonomického. Autorka sledovala, jak jsou doxorubicin a oracin přeměňovány lidskou cytosolární reduktázou AKR1C3 a pokusila se identifikovat další enzymy, které se na metabolismu těchto látek mohou podílet.

Práce je v podstatě standardně členěna na teoretickou a experimentální část, i když experimentální část není takto označena. Teoretická část, obsahující přehled současného stavu problematiky, je logicky uspořádána a má vysokou informační hodnotu. Pouze kapitola 2.4. Protein purification (str.55-65) se mi jeví jako nadbytečná, protože většinu informací v ní uvedených lze najít v běžných učebnicích biochemických metod. Cíle práce jsou formulovány jasně. Jasně a přehledně je zpracována i část 4. Materials and methods.

Část 5. Results and discussion však obsahuje řadu problémů, jak formálních, tak věcných. Především nepovažuji za šťastné, že byly výsledky a diskuse spojeny do jednoho celku. Takovéto spojení je obvyklé u prací s jednoznačným sdělením a vyzněním. V případě této disertační práce by však bylo žádoucí výsledky formulovat zřetelně a pak v oddělené kapitole podrobněji diskutovat. Tato výtka se vztahuje především ke kapitole 5.2., která místy ztrácí vnitřní strukturu a srozumitelnost.

Další dotazy a připomínky k části 5.:

1. Na straně 83 je popsána optimalizace doby inkubace reakční směsi, v níž dochází k přeměně doxorubicinu na doxorubicinol. Jako optimální byla vybrána inkubační doba 60 minut. Z tabulky 8 a obrázku 26 však není jasné, co by se stalo, kdyby byla reakční směs inkubována déle.
2. V kapitole 5.1.1.3. se autorka zabývá chirální separací doxorubicinolu. Přestože podmínky pro tuto separaci byly úspěšně nalezeny, nenašla jsem v textu žádnou zmínku o tom, jaký je poměr enantiomerů vznikajících při reakci katalyzované AKR1C3.
3. V tabulce na straně 99 není jasné, co vlastně obsahují jednotlivé sloupečky. Např. co znamená „DHO/inj“ a „DHO/incubation“, nebo jaký je vztah mezi „incubated volume“ a „total volume“. Od strany 99 dál se bohužel podobných tabulek s nejasným záhlavím vyskytuje ještě řada.
4. Na straně 101 a dále autorka bez bližšího vysvětlení předpokládá, že oracin mohl být přeměněn na dihydrooracin působením glutathion-S-transferázy. I když další experimenty tento předpoklad nepotvrdily, jedná se přinejmenším o zvláštní pracovní hypotézu, která by zasloužila podrobnější komentář.

5. Na straně 102 na obrázku 38 je vidět frakce, která obsahovala hledanou enzymovou aktivitu. K analýze hmotnostní spektrometrií však byl poslán pouze protein o molekulové hmotnosti 27 kDa. Proč nebyly analyzovány i další proteiny obsažené v této frakci?
6. Na straně 105 na obrázku 41 je elipsou vyznačen jakýsi proužek, ale není jasné, proč.
7. Na straně 123 autorka uvádí, že zaměřila pozornost zejména na proteiny o molekulové hmotnosti 27 kDa a 38 kDa. V analyzovaných frakcích jsou přitom výrazně zastoupeny i proteiny o vyšších molekulových hmotnostech. Proč nebyly také analyzovány?
8. Autorka věnovala hodně času a úsilí zavedení série chromatografických metod, čímž určitě metodicky obohatila školící pracoviště. S tvrzením na straně 142 „the team has succeeded in purifying a novel membrane-bound reductase“ lze však souhlasit jen z části. Byla sice nalezena proteinová frakce, která předpokládanou enzymovou aktivitu obsahuje, ale příslušný konkrétní protein nebyl identifikován ani pomocí hmotnostní spektrometrie, ani pomocí N-koncové analýzy.

Formální připomínky k předkládané disertační práci:

Text by si zasloužil pečlivější kontrolu z jazykového hlediska. Tvary „don't“ a „doesn't“ (např. na str. 133) do vědecké publikace nepatří; občas se vyskytují poněkud nesrozumitelné věty (např. na str. 24: „They play an important role in disease progression, since the does not develop in the absence of ovaries“), nebo nezvyklé obraty (např. na str. 123 „We concentrated our attention to bands...“)

V české verzi abstraktu (str. 145) by bylo lépe uvést: „...použitím chromatografického systému ÄKTA“, než „...použitím ÄKTA chromatografického systému“. A stanovení bílkoviny není „podle Bradforda“, protože Marion M. Bradford byla žena.

Celkově práce působí dojmem, že ke konci autorce docházely síly, aby své sdělení nějak strukturovala. V závěru tak disertace vyznívá jaksi do ztracena, ve změti tabulek, gelů a chromatogramů je pro čtenáře obtížné sledovat souvislosti.

Výsledky uváděné v disertaci byly přitom publikovány v mezinárodních recenzovaných časopisech. Je velká škoda, že příslušné články nejsou součástí nebo přílohou předkládané disertační práce. Z četby těchto publikací totiž jasně a srozumitelně vyplývá, jak zajímavých výsledků autorský tým dosáhl a kolik úsilí to vyžadovalo. Na základě této skutečnosti doporučuji disertační práci Mgr. Romany Odiany k dalšímu řízení.

RND. Olga Hrušková-Heidingsfeldová, CSc.