

ZÁPIS Z PRŮBĚHU OBHAJOBY DIPLOMOVÉ PRÁCE

Jméno a příjmení studenta:

Monika Harvanová

Název práce:

Studium interakcí derivátů oxaliplatin s lidskými cytochromy P450

Předseda komise:

Prof. Mgr. Marek Šebela, Dr.

Výsledná známka z obhajoby práce:

výborně

Průběh obhajoby:

V úvodu obhajoby diplomové práce studentka Monika Harvanová seznámila všechny zúčastněné s cílem práce a hlavními metodami využitými při zpracování práce.

Cíle diplomové práce byly definovány následovně:

- studium interakcí vybraných derivátů oxaliplatin s lidskými jaterními mikrosomálními cytochromy P450, konkrétně formami CYP1A2, CYP2A6, CYP2B6, CYP2C8, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6, CYP2E1, CYP3A4
- charakterizace interakcí pomocí specifických enzymatických aktivit na základě přeměny markerových substrátů forem CYP a stanovení inhibice enzymatické aktivity
- určení klinicky významně inhibovaných forem cytochromů P450

Odpovědi na otázky oponenta:

V celém textu několikrát špatně použity mezery, např. v závorkách.

Str. 8 - tromboxan nebo tromboxany?

Oprava – tromboxany. Látky ze skupiny eikosanoidů, na jejichž biosyntéze se podílí cytochrom P450. Podíl v biosyntéze má ale i enzym cyklooxygenasa.

Str 8 - extrajaterní míněno mimojaterní?

Ano. Správně mimojaterní nebo extrahepatální.

Str.11 – tretinoin?

Tretinoin = retinoid, kyselina all-trans-retinová (ATRA), přirozený metabolit retinolu (vitaminu A). Ve formě mastí a gelů je využíván v terapii acne vulgaris.

Je užíván i vnitřně ve formě tablet v kombinaci s chemoterapií při léčbě akutní promyelocytární leukémie. Mechanismus účinku tretinoinu je založený na indukci buněčné diferenciaci a inhibici proliferace některých transformovaných hematopoetických buněk.

Na biotransformaci tretinoinu se podílí CYP2C.

kyselina all-trans-retinová
retinol (vitamin A)

Str 13 – treonin nebo threonin

Oprava – treonin

Str 14 - obr.3. na hranici čitelnosti.

Str 20 - sek-butyl.....,

Str 23 a dále: – diklofenac nebo diclofenac nebo diklofenak?

V české literatuře uváděno diklofenak, v anglické literatuře diclofenac.

ZÁPIS Z PRŮBĚHU OBHAJOBY DIPLOMOVÉ PRÁCE

Str 25 a dále – použití hodnoty RPM nic neříká o míře použitého g, bez uvedení centrifugy a konkrétního rotoru nedostatečný údaj!

Uvědomuji si, že hodnota RPM není dostatečný údaj a je nezbytné uvádět hodnotu RCF, která poskytne čtenáři potřebnou informaci pro reprodukci experimentu. V budoucnu budu tuto chybu určitě eliminovat.

Pro různé metody různé použité RPM, proč?

Při experimentech pro stanovení enzymatické aktivity forem CYP1A2, CYP2A6, CYP2B6, CYP2C9 a CYP2D6 byla centrifugace na mikrotitrační destičce prováděna při maximu otáček použitého rotoru (3700 RPM). V popisu metodiky fluorimetrického stanovení aktivity CYP1A2, CYP2A6 a CYP2B6 jsem uvedla max. hodnotu RPM jiného rotoru – rotoru pro mikrozkuhavky (14000).

Při experimentech pro stanovení enzymatické aktivity forem CYP2E1 a CYP3A4 byla centrifugace prováděna ve skleněných zkumavkách po předchozí extrakci do organické fáze. Vzhledem k použitému materiálu byla snížena hodnota RPM na 3000 (CYP3A4). Při centrifugaci jedna ze zkumavek praskla. Proto byla centrifugace reakční směsi pro stanovení aktivity CYP2E1 prováděna delší čas při nižších otáčkách (2000 RPM).

Str. 32 – není třeba uvádět tlak 13 MPa, je to údaj pro konkrétní experimentální a přístrojové vybavení.

U všech metod by bylo lepší uvést přímo typ použité kolony, nejen pouze C18.

Pro separaci byla použita kolona LiChrocart 250-4 s náplní LiChrospher 100 RP-18.

Je v českém jazyce povoleno používání μM ?

Správně $\mu\text{mol.l}^{-1}$.

Škoda, že plnobarevný je pouze jeden graf, ostatní černobílé (nijak to ovšem nesnižuje kvalitu vědecké práce, pouze zlepšuje orientaci v grafech).

Výsledky pro 11 $\mu\text{mol.l}^{-1}$ byly experimentálně změřeny nebo extrapolovány z grafu?

Výsledky byly extrapolovány z grafu.

Pro koncentraci inhibitoru 11 $\mu\text{mol.l}^{-1}$ byla odpovídající hodnota enzymatické aktivity CYP3A4 vyhodnocena s využitím grafického softwaru.

Str. 40 – Celý text psán v trpném rodu a najednou se objevuje Já ... působí to trochu rušivě.

Str. 41 – psaní velkých písmen u názvů látek Olomoucín II versus roskovitin.

Výše uvedené nesnižuje celkovou vysokou úroveň práce, která zahrnuje i značnou experimentální část.

Připomínky a dotazy v rámci diskuse:

Byla opravdu použita koncentrace substrátu v hladině K_m pro daný substrát?

O: Byla použita standardní metodika testování podobných látek v podobném in vitro systému.

Jaké byly přesné podmínky vynesení formou Dixonova grafu při vyhodnocení enzymové kinetiky?

ZÁPIS Z PRŮBĚHU OBHAJOBY DIPLOMOVÉ PRÁCE

O: Hodnota K_m je uvedena v textu, popsaná experimentální závislost může být způsobena alosterickým chováním enzymu s použitým substrátem testosteronem. Inhibiční konstanty byly v řádu mikromolárním.

Na všechny dotazy položené členy komise uspokojivě odpověděla. Práce i obhajoba byly hodnoceny jako vynikající.

Celkové hodnocení oponované práce: výborně