

Posudek oponenta doc. Ing. Jana Fischera, CSc. na diplomovou práci Bc. Lenky Dosedělové nazvanou

Stanovení proteinových aduktů 4-hydroxyacetanilidu.

V předložené diplomové práci nás diplomantka Bc. Lenka Dosedělová seznamuje na 60 stranách textu (stránky 15 - 75) a v doprovodné přílohové části s dosavadním stavem a se svými dosaženými výsledky, týkajícími se potenciální hepatotoxicity 4-hydroxyacetanilidu neboli paracetamolu, jednoho z nejvíce používaných analgetik. Neboť jak pravil otec toxikologie Paracelsus, *Všechno je jed, ve všem je jed. Záleží pouze na dávce.* A právě předávkování paracetamolem může vést až k vážnému poškození jater. Předložená diplomová práce plně zapadá do kontextu problematiky řešené na pracovišti vedoucího diplomové práce.

V úvodních kapitolách podává diplomantka přehled o biotransformaci a biotransformačních cestách xenobiotik a detailně se zaměřuje na biotransformaci nejběžnějších analgetik, totiž kyseliny acetylsalicylové, ibuprofenu a již zmiňovaného paracetamolu. Na základě současného stavu poznání v této oblasti pak diplomantka jasně formuluje cíle, kterých chce dosáhnout. Právě přítomnost této, rozsahem zanedbatelné, kapitoly je důkazem o jasné koncepčnosti předložené diplomové práce.

V následující experimentální části jsou popsány jak postupy přípravy vzorků a kalibračních standardů, tak i podmínky a postupy instrumentálních stanovení konkrétních analytů. Nastíněné postupy představují velký objem experimentů, které musela diplomantka zvládnout. Na tomto místě musím konstatovat, že některé postupy, zvláště u přípravy kalibračních roztoků (str. 50) jsou nejasné či podle mého názoru mají daleko ke kvantitativnosti (str. 52, kap. 3.3.4).

Ve výsledkové a diskusní části jsou shrnuty a okomentovány dosažené výsledky stanovení konjugátů paracetamolu s glutathionem nebo cysteinem v různém biologickém materiálu, což představuje často komplikovanou cestu, skládající se z několika následných či vedle sebe prováděných stanovení.

I přes výše uvedené převážně pochvalné hodnocení jsem v textu našel několik chyb, nesrovnalost, nepřesností a nejasných formulací, z nichž bych chtěl poukázat na následující:

- různě v textu: *acetyl* v názvu *N*-acetyl-*p*-benzochinonimin nemá být kurzívou;
- různě v textu: nejednotná forma psaní vazebných prvků v názvech sloučenin: *N*-, *S*- *versus* *N*-, *S*-;
- str. 34, kap. 1.2.1, 1. řádek: Aspirin je registrovaná obchodní značka společnosti Bayer pro léčivý přípravek obsahující kyselinu acetylsalicylovou (což je generický název léčiva);
- str. 39, 3. řádek zdola a str. 43, 2. odst., 6. řádek zdola: v citacích jsou navíc iniciály autorů;
- str. 40, text pod obr. 6: místo nitrotirosin má být nitrotyrosin;
- str. 50, graf 1: uvedená regresní rovnice nedává smysl a nejsou uvedena ani zdrojová data pro uvedenou kalibrační závislost. Je uvedená koncentrace GSH na ose x skutečně měřenou koncentrací GSH ve standardech dále derivatizovaných pomocí OPA? Podle postupu uvedeného str. 50 nahoře se standardní roztoky GSH uvedené v tabulce 4 dále ředily před dalším použitím $3 \times (300 \mu\text{l} + 600 \mu\text{l})$. Je toto zohledněno?;
- str. 54, graf 3: uvedená regresní rovnice nedává smysl a nejsou uvedena ani zdrojová data pro uvedenou kalibrační závislost;

- str. 57, kap. 3.5.2.1., 2. řádek: manitol, sacharóza ani kys. ethylenglykoltetraoctová (skutečně?) nejsou uvedeny v seznamu chemikálií v kap. 3.2.;
- str. 68 dále: jakému aduktu APAP odpovídá v MS záznamu pík s retenční časem 2.38 - 2.4 min? Jedná se o APAP-CYS nebo APAP-SG?; kde je v tom případě druhý z aduktů?;
- doprovodná příloha je na tak obsažnou práci velice stručná, postrádám zde hlavně primární zdrojová data (VIS, fluorescence, HPLC-MS) analýz kalibračních i reálných vzorků, které by mohly odstranit některé nejasnosti v textu.

Závěrem mohu konstatovat, že předložená diplomová práce Bc. Lenky Dosedělová splnila cíle, které si vytyčila a je dalším z kamínů v mozaice poznání osudu a mechanismu působení léčiv v živých organismech. Shora uvedení připomínky a poznámky nijak zásadně nesnižují kvalitu předložené práce. Diplomovou doporučuji k obhajobě a hodnotím známkou

– výborně. –

V Pardubicích, 24. května 2016.


doc. Ing. Jan Fischer, CSc.