



Galina Černá
KBBV
Univerzita Pardubice
Studentská 573
532 10 Pardubice

v Hradci Králové, 22. května 2013

Oponentský posudek diplomové práce

Autor práce: Bc. Adéla Kmochová, Fakulta Chemicko-technologická, Univerzita Pardubice

Název práce: Modulace účinků ionizujícího záření radioprotektivními a radiosenzitizujícími látkami

Oponent: kpt. PharmDr. Aleš TICHÝ, Ph.D.

Předkládaná diplomová práce studentky oboru Analýzy biologických materiálů **Bc. Adély Kmochové** se zabývá možnostmi modulace účinků ionizujícího záření radioprotektivními a radiosensibilizujícími látkami. Práce má celkem 114 stran a tvoří ji teoretický úvod, stanovení cílů, experimentální část, výsledky, diskuze, závěr a seznam použité literatury. V práci je použito 13 obrázků, 13 grafů a 4 doplňující tabulky.

Teoretická část je zpracována na 27 stranách a zachycuje danou problematiku velmi podrobně a nezvykle komplexně. Autorka se zabývá působením ionizujícího záření na organismus a detailně popisuje fyzikální, chemickou a biologickou fazu účinku záření. V další části pak popisuje možnosti radiosensibilizace pomocí inhibitorů ústředních proteinů v odpovědi na ozáření a zejména klíčových kináz podílejících se na reparačních mechanismech poškození DNA, které jsou hlavním předmětem studie; jsou jimi: inhibitor DNA-dependentní proteinkinázy (DNA-PK) NU7441, inhibitor ataxie-telangioktazie mutované kinázy (ATM) KU55933 a inhibitor ATM-Rad3-příbuzné kinázy (ATR) VE-821. Dále se zabývá možnostmi radioprotekce zdravé tkáně látkou Gamafos. O šíři a detailnosti teoretické části vypovídá samotný fakt, že přes 250 z celkových 283 citací je použito právě v této kapitole, která by si jistě zasloužila samostatné zpracování např. jako souborný přehledový článek typu „review“.

V kapitole Experimentální část podává autorka opět velmi detailní popis použitého materiálu a metodik včetně přístrojového vybavení a chemikálií, a to způsobem, který umožnuje reprodukovatelnost provedených pokusů. Vliv výše uvedených látek na vybrané



parametry separovaných lidských lymfocytů periferní krve ozářených ex vivo byl hodnocen pomocí metody průtokové cytometrie (měření fosforylace histonu H2A.X na serinu 139, což je typická známka poškození DNA dvojitými zlomy a měření indukce apoptózy). Dále byla provedena analýza mikrojader, nukleoplazmatických mostů a jaderných pupenů.

Cíle práce byly realisticky vytyčeny, jasně definovány a odpovídajícím způsobem naplněny. Výsledky jsou popsány na 16-ti a diskutovány na 6-ti stranách a připojena je pečlivá statistická analýza. Ze závěrů práce vyplývá, že všechny použité inhibitory daných kináz do určité míry modulují účinek ionizujícího záření. Zatímco inhibice DNA-PK neovlivňuje u ozářených lidských periferních lymfocytů fosforylací H2AX, významně zesiluje genotoxický a cytotoxický účinek ionizujícího záření. S fosforylací H2AX u lymfocytů nejfektivněji interferuje inhibitor ATM kinázy KU55933, který zároveň redukuje indukci apoptózy. Inhibice ATR kinázy vyvolá pouze mírný pokles fosforylace H2AX.

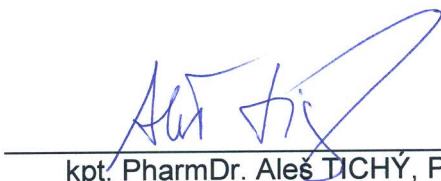
Práce je koncijní a je sepsána velmi dobrou češtinou. Obsahuje minimum překlepů. Z formální stránky bych pouze vytknul používání, slova „apoptotest“ namísto „apoptest“. Tento drobný nedostatek, a to zdůrazňuji, nesnižuje kvalitu vlastní práce. Naopak práce má potenciál být publikována v časopise s „impakt faktorem“.

DOTAZY OPONENTA:

1. Ve vaší práci se zabýváte radiosenzibilizací normálních (nenádorových) buněk. V klinické praxi má ale daleko větší význam radiosenzibilizace buněk nádorových. Který z vámi používaných inhibitorů by se dal pro takový účel použít?
2. Jsou v současné době některé z inhibitorů klíčových proteinů v odpovědi na ozáření ve fázi pre/klinického zkoušení?
3. Radioprotektivní efekt Gamafosu u periferních lidských lymfocytů se Vám nepodařilo prokázat. Naopak jste dospěla k závěru, že zesiluje cytotoxické účinky ionizujícího záření. Čím si to vysvětlujete a jak by se dalo této skutečnosti vzhledem k mechanismu účinku Gamafosu využít v radio-senzibilizaci nádorových buněk?



ZÁVĚR: Práce byla provedena a sepsána vědecky odpovídajícím způsobem a přinesla nové poznatky týkající se radiosensibilizace promocí inhibitorů fosfatidylinositol-3 kináz. V rámci experimentů byly použity moderní metodiky v souladu se současnými světovými trendy. Proto konstatuji, že předložená práce vyhovuje všem předpisům stanoveným pro diplomovou práci a navrhoji její přijmutí k obhajobě. Vzhledem ke kvalitě, rozsahu a zpracování předkládané práce ji hodnotím známkou „**výborně**“.


kpt. PharmDr. Aleš TICHÝ, Ph.D.

Katedra Radiobiologie
Fakulta Vojenského Zdravotnictví
Univerzita Obrany v Brně
Třebešská 1575
500 01 Hradec Králové
tel.: +420 973 253 216
e-mail: tichy@pmfhk.cz