



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 radiosenzibilizujícími 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 fázi 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-dependenční proteinkinázy (DNA-PK) NU7441, inhibitor ataxie-telangiectázie 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 umožňuje 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 fosforylaci H2AX, významně zesiluje genotoxický a cytotoxický účinek ionizujícího záření. S fosforylací H2AX u lymfocytů nejefektivněji interferuje inhibitor ATM kinázy KU55933, který zároveň redukuje indukci apoptózy. Inhibice ATR kinázy vyvolá pouze mírný pokles fosforylace H2AX.

Práce je koncizní 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?



Fakulta Vojenského Zdravotnictví v Hradci Králové,
Univerzita Obrany v Brně,
Česká Republika



ZÁVĚR: Práce byla provedena a sepsána vědecky odpovídajícím způsobem a přinesla nové poznatky týkající se radiosensibilizace pomocí 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 navrhuji její přijetí 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