

Oponentský posudek na disertační práci

Název: Mutagenní a antimutagenní účinky látek zevního prostředí

Autor: MUDr. Martina Langová

Předložená disertační práce, která byla vypracována na Ústavu obecné biologie a genetiky KBO 3.LF UK pod vedením školitelů RNDr. Ivo Bárty, CSc. a MUDr. Pavla Vodičky, CSc., řeší velmi zajímavou a aktuální problematiku mutagenních a antimutagenních účinků látek přírodního původu vyskytujících se v potravinách. Dlouhodobý význam této problematiky je v poslední době akcentován i rostoucím zájmem o zdravou výživu a zvyšující se oblibou volně prodejných potravinových doplňků.

Cíle práce jsou stanoveny jasně, i když poněkud postrádám jasně formulovanou hypotézu. Autorka si ve své práci vytyčila za cíl sledovat antimutagenní účinky kyseliny elagové, resveratrolu, dialylsulfidu a fenetyl isothiokyanátu na tři látky s mutagenní aktivitou (aflatoxin B₁, 2-amino-3-methylimidazo[4,5,]chinolin a N-nitroso-N-methylurea) s využitím prokaryotního a eukaryotního modelu. Mohu konstatovat, že cíle byly splněny.

Disertační práce je celkově psána jasně a přehledně. Zvolené metodické postupy testování na indikátorových kmenech *S. typhimurium* a na laboratorních myši se vzájemně vhodně doplňují a umožňují splnění vytyčených cílů. Získané výsledky byly adekvátně statisticky zhodnoceny. Literární přehled, který je poněkud nezvykle začleněn do cílů disertační práce, je přehledně a srozumitelně zpracovaný. V některých pasážích by si daná problematika zasloužila podrobnější zpracování, nicméně postihuje stav současných znalostí o vybraných látkách přírodního původu s mutagenní i antimutagenní aktivitou. Drobnou připomínku mám k některým z citovaných pramenů. Např. na str. 7 citovaná práce Fraise *et al.* (1999). Skutečně tato práce kvantifikuje množství kyseliny elagové v různých rostlinách? Na str.14 autorka cituje práci z roku 2008 v souvislosti s rizikem aflatoxinu B₁ a viru hepatitidy pro vznik hepatocelulárního karcinomu nebo na str.10 v souvislosti s antikancerogéním efektem dialylsulfidu. Tato fakta jsou skutečně známa až od letošního roku? Str. 12: Studii o efektu isothiokyanátů na leukemické buňky provedli Fimoghari *et al.* nebo Fimognari *et al.*? Str 14: Citované práce Smith *et al.* (2001) a Ferguson, 1999 chybí v seznamu použité literatury.

Výsledky předkládané práce přispívají k rozšíření dosavadních znalostí o bioaktivních látkách, které se vyskytují v potravinách. O jejich významu svědčí i fakt, že byly publikovány ve vědeckých časopisech, kde prošly oponentním řízením. Výsledky jsou přehledně uspořádány podle vytyčených cílů. Doporučovala bych zařazením vhodně zvolených grafů usnadnit čtenáři orientaci ve výsledcích. Tabulky s výsledky Amesova testu působí poněkud nepřehledným dojmem. Diskuse práce je věcná a svědčí o orientaci autorky v dané problematice. Bylo by však vhodné, kdyby se v této části práce pokusila autorka více specifikovat možné mechanismy antimutageního působení sledovaných látek a diskutovat rozdíly mezi jejich působením.

V závěru disertační práce autorka shrnuje význam testování látek přírodního původu. Domnívám se, že by bylo vhodné na tomto místě zařadit i stručné shrnutí dosažených výsledků. Odstavec o nutrigenomice by bylo vhodnější zařadit místo do závěru spíše do úvodu, případně ho zcela vynechat. Postrádám v závěru vyjádření se autorky k dalšímu plánovanému pokračování práce v této oblasti výzkumu, neboť výsledky předkládané autorkou navozují celou řadu otázek a témat k dalšímu řešení, například v oblasti molekulárních mechanismů působení sledovaných bioaktivních látek.

Po formální stránce nemám k práci žádné zásadní připomínky. V práci ojediněle zůstaly některé drobné překlepy a pravopisné chyby a chybějící slova ve větách (např. str. 4, 7, 10, 16, 17, 32). Větší počet překlepů zůstalo v seznamu použité literatury. Doporučila bych autorce sjednotit pravopis cizích slov (mechanismus x mechanismus, chromozóm x chromosom, spiralizace x spiralisace, agarózový x agarosový a další) a vybrat si ze způsobů jejich psaní, který dovoluují pravidla českého pravopisu, pouze jeden.

K disertační práci MUDr. Martiny Langové mám následující dotazy:

1) Podle jakých kritérií byly vybrány sledované bioaktivní látky s mutagení a antimutagení aktivitou? Např. proč byl ze skupiny biologicky aktivních isothiokyanátů vybrán fenetyl isothiokyanát a ne jiný s vyšším antimutagením efektem nebo proč byl jako látka s mutagení aktivitou vybrán zrovna aflatoxin B₁, který je sice známým, ale v našich podmínkách nepříliš častým mutagenem vyskytujícím se v potravinách? Proč nejsou v práci zařazeny i genistein a curcumin, jejichž antimutagením efektem se zabývaly přiložené práce, na kterých jste se spolupodílela?

2) Jak byly zvoleny testované koncentrace jednotlivých chemoprotektivních látek?

3) V literárním přehledu několikrát zmiňujete proteiny signální dráhy MAPK v souvislosti s antimutagenní aktivitou sledovaných látek. Mohla byste blíže objasnit zapojení signální dráhy MAPK v těchto procesech?

4) Pro Amesův test jsou dostupné i jiné indikátorové kmeny *S. typhimurium* než TA98 a TA100, jejichž použití zvyšuje citlivost testu. Uvažovala jste o jejich využití? Který z dostupných indikátorových kmenů by byl vhodný k doplnění kmenů TA 98 a TA100 pro testování a proč? Čím si vysvětlujete rozdílný efekt sledovaných látek na kmeny TA98 a TA100, tedy že N-nitroso-N-methylurea měla mutagenní efekt pouze na kmen TA100 a u tohoto kmene se prakticky neprojevila antimutagenní aktivita dialylsulfidu?

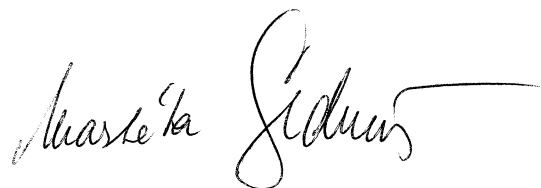
5) Jak si vysvětlujete mutagenní efekt dávky 10 $\mu\text{g}/\text{misku}$ aflatoxinu B₁ bez metabolické aktivace, když aflatoxin B₁ je nepřímým mutagenem?

6) Čím si vysvětlujete fakt, že koncentrace 30 $\mu\text{g}/\text{misku}$ kyseliny elagové měla v Amesově testu vyšší antimutagenní efekt na aflatoxin B₁, než koncentrace 10x vyšší?

Závěr: Výsledky, kterých bylo dosaženo exaktními metodami, rozšiřují vědecké poznatky v oblasti antimutagenní aktivity látek přírodního původu vyskytujících se v potravinách a jsou nejen přínosem v daném oboru, ale přináší i podněty pro další experimentální práci.

Disertační práce MUDr. Martiny Langové splňuje všechny požadavky kladené na disertační práci podle § 47, odstavce zákona č. 111/1998 Sb. o vysokých školách. Proto doporučuji práci přijmout k obhajobě a po jejím úspěšném obhájení udělit MUDr. Martině Langové akademický titul „doktor“ (ve zkratce Ph.D.)

V Praze 19. září 2008



Doc. Ing. Mgr. Markéta Sedmíková, Ph.D.