



RNDr. Maria Dusinska, PhD
Director of the Health Effects Laboratory,
Environmental Chemistry, NILU
POB 100, Instituttvn. 18, N-2027 Kjeller, Norway
tel. +47-63898000 direct +47-63898157
fax +47-63898050
E-mail: maria.dusinska@nilu.no
<http://www.nilu.no>

November 30, 2013

Oponentský posudok na dizertačnú prácu Mgr. Petry Fikrovej: 'Hodnocení poškození a reparace DNA u pacientů s nemalobuněčným plicním karcinomem vzhledem k farmakoterapii deriváty platiny'

Autorka si zvolila veľmi závažnú tému rakoviny pľúc a monitorovania terapie s použitím biologických markerov ako je poškodenia a reparácia DNA. Predložená dizertačná práca je koncipovaná ako súbor publikovaných vedeckých prác s úvodom do problematiky, postulovanými cieľmi s komentárom k vypracovaným publikáciám a priloženými publikáciami. Celkove má práca 118 strán, z toho teoretická časť tvorí 41 strán, cieľom a komentárom k publikáciám sa autorka venuje na 12-nástich stranách.. Nosnú časť práce tvoria samotné publikácie – štyri prijaté do časopisu alebo už opublikované, jedna je v recenznom konaní, celkove 50 strán. Závery práce sú zhrnuté veľmi prehľadne na dvoch stranách.

Autorka vynikajúco zvládla teoretickú časť dizertačnej práce, v ktorej popisuje základné problémy nádorových ochorení a ich liečby, špeificky sa venuje nemalobunečnému karcinómu, cytostatikám ako sú platinové deriváty, účinkom a klinickým aspektom liečby platinovými derivátmi a ako aj rezistencii na ne. Vynikajúci prehľad podáva o o oxidačných poškodeniach DNA a ich dôsledkoch ak sa mutácia zafixuje v DNA. Podstatná časť je venová DNA oprave tak bázovej ako aj nukleotidnej excíznej ako aj metódam na detekciu poškodení DNA. Celkove hodnotím teoretickú časť veľmi kladne a nemám k nej pripomienky.

Ciele práce sú formulované logicky a sú reálne. Po experimentálnej stránke sa autorke podarilo zvládnuť nemalé množstvo metód postavených na jednobunkovej gelovej elektroforéze (comet assay), ktoré tvoria širokú paletu molekulárnych biomarkerov DNA poškodení ako sú jednoretazcové zlomy DNA, oxidačné poškodenia, krížové väzby a reparácia DNA. Uplatnením metód na detekciu rôznych poškodení DNA spolu s metódou sledovania ich reparácie sa jej podarilo zanalyzovať súbor pacientov s rakovinou pľúc pred a počas chemoterapie. Výsledky autorka zhodnotila a prezentuje vo forme publikácií. Celkove zahrнула do dizertačnej práce päť publikácií, štyri z nich už vyšli v odborných vedeckých časopisoch s impaktovým faktorom a jedna publikácia je v súčasnosti v recenznom konaní. Dve práce sú spracované ako prehľady súčasných poznatkov a tri sú pôvodné experimentálne práce.

Publikované práce prešli už recenzným konaním čo uľahčuje úlohu oponenta. K práci mám preto len niekoľko otázok a podnetov k diskusii:

- V prvej publikácii ste sa zamerali na oxidačný stres, jeho efekt na biomolekuly a tiež vplyv antioxidantov a vitamínov pri ochrane voči oxidačnému stresu. Je antioxidantný mechanizmus jedinou úlohou týchto enzýmov alebo sú možné aj ich ďalšie funkcie v bunke?
 - V druhej publikácii opisujete metódu 'comet assay' a jej využitie v klinických a intervenčných štúdiách. Aké využitie tohto testu predpokladáte v budúcnosti najmä v spojení s miniaturizáciou, 'high-throughput' formou a prípadnou automatizáciou? Bude možné prípadné využitie v klinickej praxi ako diagnostická metóda?
 - Modifikáciu comet assay na detekciu krížových väzieb so styrénoxidom je veľmi prínosná, pretože zjednodušuje metódu a rozširuje jej aplikáciu. Prečo ste vybrali práve styrénoxid? Použili ste aj inú DNA zlomy indukujúcu látku? Pri porovnaní lymfocytov s HeLa bunkami sa zdá, že lymfocyty sú citlivejšie na styrénoxid. Použili ste tú istú koncentráciu styrénoxidu? Ak áno, čím si tento rozdiel vysvetľujete?
 - Článok , DNA crosslinks, DNA damage and repair in peripheral blood lymphocytes of non-small cell lung cancer patients treated with platinum derivatives' obsahuje veľa zaujímavých zistení o poškodeníach DNA – zlomoch a krížových väzabách, ako aj o reparácii DNA (NER a BER)
-

u pacientov v porovnaní s adekvátnou kontrolnou skupinou. Zistili ste vyššiu kapacitu BER u kontrol v porovnaní s pacientami a žiadne rozdiely v NER. Máte na to nejaké vysvetlenie?

- V poslednom manuskripte sa zaoberáte oxidačným poškodením DNA u pacientov v chemoterapeutickej liečbe. Zaujímavá je inter-individuálna variabilitu v hladine oxidačných poškodení. Sledovala ste prípadné korelácie s ďalšími klinickými markermi (napríklad zápalovými) alebo vylúčila možnú inter-experimentálnou variabilitou spojenú s citlivosťou metódy? V každom prípade možný vzťah medzi oxidačným poškodením DNA a prežitím pacientov v poslednom štádiu nemalobunečného karcinómu je zaujímavý a zasluhuje ďalšie sledovanie.

Predložená práca má vysokú odbornú úroveň, spĺňa všetky formálne predpoklady k obhajobe. Autorka preukázala schopnosť vedecky myslieť a teoreticky, metodicky ako aj experimentálne riešiť vedecký problém. Množstvom, ale najmä kvalitou práca prevyšujú nároky kladené na dizertačnú prácu a doporučujem ju k obhajobe.

Mária Dušinská
