Abstrakt

Jednobuněčná gelová elektroforéza neboli kometový test je metoda umožňující detekovat poškození DNA a v kombinaci s enzymy excisní opravy odhaluje i oxidační poškození DNA. V první části práce byla pomocí této metody analyzována inefektivní krvetvorba u pacientů s méně pokročilými subtypy MDS. Refrakterní anémie (RA) vykazovaly oproti kontrolám vyšší instabilitu DNA v buňkách kostní dřeně (k.d.) a rozsah fragmentace DNA koreloval s periferní cytopénií. U pacientů s RA s věnečkovými sideroblasty (RARS) však takový vztah prokázán nebyl, i když hladiny zlomů v DNA výrazně převyšovaly i hodnoty detekované u RA. Obě skupiny pacientů měly také v k.d. vysoké hladiny oxidačního poškození DNA, jeho rozsah však nekorespondoval ani s hladinami sérového ferritinu, ani s cytopénií či přidruženým zánětlivým onemocněním. Tyto výsledky naznačily, že oxidační poškození DNA sice není hlavní příčinou rozsáhlé apoptózy buněk v k.d. pacientů s MDS, nepochybně však přispívá k instabilitě genomu a progresi onemocnění.

V další části práce byl kometový test využit při analýze vlivu znečištěného ovzduší a genetických polymorfismů na poškození DNA, lipidů a proteinů řidičů městských autobusů a zaměstnanců garáží. Obě skupiny měly zvýšené hladiny DNA-SB a oxidačního poškození proteinů oproti kontrolám, zvýšená peroxidace lipidů byla zaznamenána pouze u řidičů. Výskyt oxidovaných bází v DNA koreloval s expozicí benzénu. Přítomnost alespoň jedné mutantní alely *hOGG1 (Cys)* v genotypu zvyšovala riziko oxidačního poškození DNA, zatímco homozygoti s *XPD23 (Gln/Gln)* byli v porovnání s nositeli standardní alely náchylnější k indukci DNA-SB. Jako hlavní příčina zvýšené oxidace proteinů a lipidů byly identifikovány karcinogenní polycyklické aromatické uhlovodíky (k-PAU). Riziko oxidačního poškození lipidů nepříznivě ovlivňoval vyšší věk a zvýšené hladiny LDL cholesterolu, zatímco vysoké hladiny vitamínu C měly protektivní efekt.

V poslední části práce byly studovány biologické účinky různých supeparamagnetických nanočástic oxidů železa na lidské kmenové buňky k.d. získané od dvou dárců. Všechny typy nanočástic bez ohledu na jejich povrchovou úpravu indukovaly v buňkách poškození DNA a dlouhodobý oxidační stres, a to i v případech, kdy klasické testy na viabilitu a buněčnou smrt nenaznačovaly žádné škodlivé účinky. Absence akutních toxických účinků tak nezaručuje bezpečnost testovaných nanočástic pro biomedicínské aplikace.