

Oponentský posudek disertační práce RNDr. Michala JÁGRA „Studium aduktů styren-7,8-oxidu s cysteinem, histidinem a lysinem v lidském globinu“

Disertační práce RNDr. Michala Jágra řeší velmi závažnou problematiku, vysoce významnou pro rozvoj několika vědních disciplín, konkrétně především analytické a organické chemie, dále pak toxikologie a molekulární epidemiologie.

Vědecká práce Michala Jágra je zaměřena na vývoj analytických a syntetických postupů pro přípravu aduktů proteinů a aminokyselin se sloučeninami, které jsou odvozeny od mutagenního a karcinogenního polutantu životního a pracovního prostředí, styrenu. Takové adukty jsou esenciální pro využití při sledování expozice lidské populace toxikantu, ze kterého jsou odvozeny, jako standardů pro biomonitoring. Disertační práce Michala Jágra si kladla několik cílů. Jedná se především o studium aduktů tvořených z reaktivního metabolitu styrenu, styren-7,8-oxidu, s krevním proteinem globinem, konkrétně zastoupením aduktů s jeho aminokyselinami a přípravou a analýsou nejzastoupenějších aduktů. Při vypracování disertační práce byly poprvé úspěšně vyvinuty metody syntesy a izolace jednotlivých regioisomerů aduktů styren-7,8-oxidu s cysteinem, histidinem a lysinem. Získané syntetické preparáty byly izolovány semi-preparativní HPLC a byly charakterisovány jejich struktury. Cenné výsledky byly získány i v přípravě deuterovaných analogů aduktů s cysteinem a histidinem. Ty jsou esenciální pro kvantitativní studie, jako vnitřní standardy. V dalším výzkumu realizovaném kandidátem byly připravené adukty detegovány v enzymových hydrolysátech vzorků lidských globinů inkubovaných se studovanou sloučeninou *in vitro*. Tato skutečnost signalizuje vhodnost uvedených aduktů k jejich použití jako biomarkerů expozice lidské populace styrenu a jeho 7,8-oxidu. Mohou sloužit i jako markery ve studiích s modelovými živočišnými organismy, které výsledně mohou vysvětlit mechanismus genotoxického působení styrenu. Z analytického hlediska je rovněž cenný vývoj metody extrakce aduktů styren-7,8-oxidu z hydrolysátu globinu na SPE kolonkách a využití této metody k detekci aduktů s globinem v lidské krvi.. Synthesa uvedených aduktů a jejich analytická separace jsou vysoce významná nejen z hlediska nalezení originálních postupů důležitých pro rozvoj teoretického poznání v analytické a organické chemii, ale i pro praktické využití, konkrétně, jak již bylo zmíněno, pro jejich použití v testování ohrožení lidské populace v pracovním prostředí genotoxickými sloučeninami, styrenem a jeho reaktivním oxidem. Všechny tyto aspekty se promítly i do publikačních aktivit RNDr. M. Jágra. Výsledky práce byly publikovány v několika krátkých příspěvcích a ve dvou původních pracích ve vědeckých periodikách, jedné z nich (Chem. Res. Toxicol.) s kvalitním

impaktivním faktorem. Zvolené téma disertační práce řešené M. Jágrem je tedy skutečně aktuální.

Z disertační práce je patrné, že autor je zdatným experimentátorem, který musel zvládnout širokou paletu experimentálních metod nutných pro syntetické postupy, izolace získaných preparátů i jejich charakterisaci. Vysoká metodická úroveň experimentální práce pak byla zárukou pro získání hodnotných výsledků, které významně rozvíjejí základní teoretické poznání. Výsledky disertační práce RNDr. M. Jágra plně odpovídají vytčeným cílům. Práce přináší původní vědecké výsledky, které byly, jak již bylo uvedeno, publikovány. Na obou časopiseckých pracích je Dr. Jágr prvním autorem. To ukazuje i jeho podstatný podíl na uvedených publikacích. Výsledky disertační práce proto hodnotím velmi pozitivně.

Disertační práce RNDr. Michala Jágra je jak po stránce formální tak i obsahové velmi pěkně vypravena. I když již výsledky byly publikovány, je psána klasickým způsobem, používaným pro doktorské disertační práce. Získané výsledky jsou v disertační práci adekvátně hodnoceny a tvoří hodnotný základ pro rozvoj vědeckého bádání v této oblasti i do budoucna. Z celkového řešení zvolené problematiky je patrné, že pracoviště, jehož je kandidát členem, patří mezi pracoviště špičková. K práci mám několik dotazů, především jako podklad pro diskusi:

- 1) Sledování aduktů aminokyselin globinu s environmentálními a pracovními toxikanty (mutageny, karcinogeny) je, jak bylo výše uvedeno, využitelné v biomonitorování. Je známo, jestli se tvorbou aduktů mění, a jakým způsobem, biologické vlastnosti tohoto krevního proteinu?
- 2) Mohl by autor zhodnotit výhody monitorování lidské populace exponované styrenu pomocí analýsy aduktů s proteiny, oproti analýse aduktů s DNA?
- 3) Předpokládá autor využití sythetisovaných aduktů ve sledování jejich výskytu v lidském globinu ohrožených skupin populace?

Závěr

Disertační práce RNDr. Michala Jágra je velmi zdařilou vědeckou prací. Dle mého názoru práce rozhodně splňuje požadavky kladené na práce obdobného typu. Přináší původní vědecké výsledky, které již také byly publikovány. Proto ji plně doporučuji k přijetí

k obhajobě. Doporučuji rovněž, aby byl po úspěšné obhajobě předložené práce RNDr. Michalu Jágrovi přiznán vědecký titul **Ph.D.**

V Praze, 22.11.2007

Prof. RNDr. Marie Stiborová, DrSc.
katedra biochemie, Přírodovědecká fakulta UK