

Oponentský posudek disertační práce Oksany SEVASTYANOVÉ, M.D. „Genotoxicity of organic air pollutants studied by DNA adduct detection“

Disertační práce Oksany Sevastyanové řeší vysoce závažnou oblast výzkumu, významnou pro rozvoj molekulární epidemiologie. Práce se zabývá studiem biologických účinků znečištěného ovzduší evropských městských aglomerací. Je důležitá jak z teoretického vědeckého hlediska, tak i hlediska praktického.

Záměrem disertační práce Oksany Sevastyanové je komplexní studium genotoxických účinků látek, které jsou přítomné v ovzduší městských aglomerací jako organické polutanty adsorbované na vzdušné částice. Jako biomarker genotoxického poškození byla vybrána především analýza aduktů sledovaných polutantů (v komplexní směsi těchto látek) s DNA. Sledovány byly i další potenciálně vhodné biomarkery, jako je indukce zlomů DNA a regulace proteinu p53. Komplexní studie navíc zahrnovala přístupy na několika úrovních. *In vitro*, za použití modifikace DNA směsí polutantů buď za přítomnosti aktivačního enzymového systému (S9 frakce) či bez něho. *In vitro* byly studovány i vlivy polutantů na lidské buněčné linie, se záměrem nalézt linii relevantní pro takové studie. Přístup *in vivo* pak byl realizován sledováním účinku expozice organickým látkám adsorbovaným na vzdušné částice na DNA adukty v lymfocytech u skupiny policistů pracujících v oblasti pražské aglomerace. Takovýto komplexní přístup považuji za vysoce přínosný k osvětlení problematiky genotoxického působení vzdušných polutantů. Výsledky získané při vypracování disertační práce O. Sevastyanové jsou vysoce významné především pro praktické využití, konkrétně pro návrh standardních protokolů testování ohrožení lidské populace environmentálními genotoxickými faktory. Zvolené téma disertační práce řešené O. Sevastyanovou je tedy skutečně vysoce aktuální. Aktuálnost tématu je samozřejmě potvrzena i skutečností, že řešení problematiky je dlouhodobě finančně podporováno řadou grantů.

Z disertační práce je patrné, že autorka musela zvládnout širokou paletu experimentálních metod, které se v molekulární epidemiologii úspěšně používají. Pro studium tvorby aduktů s DNA byla vhodně zvolena metoda „³²P-postlabeling“, vzhledem k její vysoké citlivosti pro detekci kovalentních modifikací DNA hydrofobními sloučeninami, které jsou součástí znečištěného ovzduší. Autorka musela rovněž zvládnout práci s buněčnými kulturami a lidským materiálem (periferní lymfocyty). Zvládnuté metodické postupy O. Sevastyanova plně aplikovala ve vlastní experimentální práci v analýze biologického materiálu. Vysoká metodická úroveň experimentální práce i kvalitní výběr a kolekce biologického materiálu pro

analyses pak byla zárukou pro získání hodnotných výsledků, které významně rozvíjejí základní teoretické poznání.

Výsledky disertační práce O. Sevastyanové plně odpovídají vytčeným cílům. Práce přináší původní vědecké výsledky, které již také byly publikovány (4 publikace) nebo jsou k publikaci zaslány (1 publikace), a to v prestižních renomovaných vědeckých periodikách s vysokými hodnotami impaktového faktoru. Výsledky práce prošly náročným recenzním řízením v odborných časopisech. Jejich validita tedy byla již jednoznačně prokázána. Na dvou těchto publikacích je Oksana Sevastyanova první autorkou. To ukazuje i její podstatný podíl na uvedených publikacích, i když je pochopitelné, že publikace jsou koncipované jako výsledky dlouholeté týmové práce, která je pro molekulární epidemiologii nezbytná. Výsledky disertační práce hodnotím velice vysoko.

Disertační práce O. Sevastyanové je jak po stránce formální tak i obsahové velmi pěkně vypravena. I když již výsledky byly publikovány (či jsou součástí práce k publikaci zaslány), je psána prakticky klasickým způsobem, používaným pro doktorské disertační práce. Pouze výsledková část (s používanými metodami) je koncipována jako odkaz na pět publikací, které tvoří přílohy disertační práce. Takový přístup považuji za optimální. Z práce je patrné, že O. Sevastyanova musí být zdatnou a vytrvalou experimentátorkou. Získané výsledky jsou v disertační práci adekvátně hodnoceny a tvoří vysoce kvalitní základ pro rozvoj vědeckého bádání v této oblasti i do budoucnosti. Z celkového řešení zvolené problematiky je patrné, že pracoviště, jehož je kandidátka členkou, patří mezi vědecké špičky.

K disertační práci mám následující dotazy, které podávám především jako podklad pro diskusi:

- 1) V práci je sledováno genotoxické působení polycyklických aromatických uhlovodíků a jejich směsí. Je autorce známo, které z dalších vzdušných polutantů městských aglomerací mohou působit genotoxicky, a to některé z nich dokonce významnější měrou než polycyklické aromatické uhlovodíky?
- 2) Jaké další metody jsou vhodné pro detekci a kvantifikaci genotoxického působení vzdušných polutantů typu PAU a sloučenin dalších?

Závěr

Disertační práce Oksany Sevastyanové, M.D. je velmi zdařilou vědeckou prací. Dle mého názoru 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 O. Sevastyanové přiznán vědecký titul **Ph.D.**

V Heidelbergu, 15.8.2007

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