



Galina Černá  
KBBV  
Univerzita Pardubice  
Studentská 573  
532 10 Pardubice

v Hradci Králové, dne 17. 05. 2012

### **Oponentský posudek diplomové práce**

Autor práce: Bc. Kamila Ďurišová, Fakulta Chemicko-technologická, Univerzita Pardubice

Název práce: Význam inhibice reparace radiačního poškození při indukci apoptózy

Oponent: MUDr. Jaroslav Pejchal, Ph.D.

Předkládaná diplomová práce studentky oboru Analýzy biologických materiálů **Bc. Kamily Ďurišové** má celkem 86 stran. Vlastní práci tvoří teoretický úvod, stanovení cílů, experimentální část, výsledky, diskuze, závěr a seznam použité literatury.

Teoretická část je zpracována na 19 stranách a komplexně zachycuje problematiku, kterou se diplomové práce zabývá. V úvodu teoretické části autorka popisuje biologické účinky ionizujícího záření a jeho vliv na nejcitlivější strukturu v buňce – DNA. Následuje kapitola věnovaná rodině fosfatidylinositol-3-kinázy (PI3K), zejména její 4. podskupině, do které jsou řazeny kinázy v přímém vztahu s detekcí, signalizací a následnou reparací poškození DNA. Následuje kapitola pojednávající o inhibitech 4. podskupiny PI3K, jež jsou ústředním tématem této magisterské práce. Inhibitory 4. podskupiny PI3K zvyšují citlivost buněk vůči ionizujícímu záření a jejich použití se může stát významnou strategií v léčbě nádorových onemocnění. Další části úvodní teoretické části podrobně popisují hlavní cesty reparace poškození DNA a apoptózu, neboť hodnocení proteinů účastnících se těchto dvou procesů a kvantitativní hodnocení apoptózy umožňuje pochopit mechanismus a míru účinku inhibitorů PI3K, což je hlavním výstupem experimentální části práce.

Cíle práce jsou dobře a srozumitelně definovány.

Kapitola experimentální části je zpracována na 15 stranách a je rozdělena na 3 části – (1.) materiál a metody, (2.) chemikálie a roztoky a (3.) přístrojové vybavení. Kapitola je sepsána způsobem umožňujícím reprodukovatelnost pokusů. Pro vlastní experimenty byly jako model vybrány buňky buněčné linie T-lymfocytární leukémie MOLT-4, rozdělené do 4 skupin – kontrolní skupiny, skupiny ozářené dávkou 1 Gy, skupiny ovlivněné inhibitorem fosfatidylinositol-3-kináz (buď NU7441, nebo NU7026, se kterým byly provedeny pouze experimenty doplňující předchozí práci provedenou na katedře vojenské radiobiologie), skupiny ovlivněné kombinací inhibitoru fosfatidylinositol-3-kináz a ionizujícího záření o dávce 1 Gy. Experimentální model byl hodnocen metodami zahrnujícími elektroforetické metody, ELISA, průtokovou cytometrii a mikroskopické metody včetně epifluorescenční metody.



Výsledky měření jsou kvalitně zpracovány na 20 stranách a diskutovány na 7 stranách, kde autorka dokazuje dobrou práci s literaturou a pochopení použitých metod. Z výsledků například vyplývá, že ionizující záření a zejména jeho kombinace s inhibitory PI3K vyvolává poškození DNA, což bylo názorně prokázáno použitím epifluorescenčních metod, aktivuje p53/p21 signální dráhy, zesiluje pro-apoptickou signalizaci, indukuje apoptózu, respektive snižuje viabilitu buněk a naopak inhibuje anti-apoptické proteiny. Z výsledků vyplývá, že NU7441 je v koncentracích 10násobně nižších účinnějším induktorem apoptózy než NU7026. Tyto výsledky jsou též shrnutý v závěru práce.

V seznamu použité literatury je celkem 82 odkazů, u kterých autorka dodržuje citační normu. Citace též potvrzují aktuálnost řešené problematiky, neboť více než 17 % z těchto citací tvoří publikace z roku 2011.

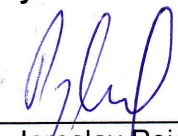
Práce je sepsána srozumitelnou formou, s minimem překlepů. Z formální stránky bych snad pouze zmínil to, že slovo ELISA, jež je zkratkou slov Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay, se neskloňuje (viz str. 44, řádek 14), ač to silně v kontextu českého jazyka láká. Tento drobný nedostatek nesnižuje kvalitu vlastní práce. Naopak tato práce má potenciál být publikována v časopise s „impakt faktorem“.

#### Otázky recenzenta:

- 1) Vzhledem k tomu, že inhibitory nejsou schopny po ozáření 1 Gy inhibovat míru fosforylace p53 na Ser 15 a naopak ji zvyšují, čím si vysvětlujete pokles fosforylace p53 na Ser 15 po podání inhibovat neozářeným buňkám?
- 2) Jsou inhibitory PI3K klinicky testovány?

#### Závěr:

Práce byla naplánována, provedena a sepsána vědecky odpovídajícím způsobem a přinesla nové poznatky týkající se účinku inhibitorů PI3K. V rámci experimentů byly použity moderní metodiky v souladu se současnými světovými trendy. Předložená práce **vyhovuje** všem předpisům stanoveným pro diplomovou práci. Proto ji navrhuji přijmout k obhajobě a vzhledem ke kvalitě předkládané práce ji **hodnotím známkou výborně**.

  
MUDr. Jaroslav Pejchal, Ph.D.

Centrum pokročilých studií  
Fakulta Vojenského Zdravotnictví  
500 01 Hradec Králové  
tel.: +420 973 253 216  
e-mail: [pejchal@pmfhk.cz](mailto:pejchal@pmfhk.cz)