

Pplk. RNDr. Zuzana Kročová, Ph.D.
samostatný vědecký pracovník
Fakulta vojenského zdravotnictví Univerzity Obrany
Třebešská 1575
500 01 Hradec Králové

Oponentský magisterské diplomové práce

Bc. Evy Richterové

Název projektu: Vliv separačních podmínek na životnost krevních lymfocytů ovlivněných *in vivo* ionizujícím zářením

Nositel projektu: Univerzita Pardubice, Fakulta chemicko-technologická, katedra biologických a biochemických věd

Řešitel projektu: Bc. Eva Richterová

Oponent: pplk. RNDr. Zuzana Kročová, Ph.D.

Diplomová práce Bc. Evy Richterové je sepsána v rozsahu 82 stran + příloha a je klasicky členěna. V úvodu autorka předkládá charakteristiku a vývoj jednotlivých buněčných sub-populací vyskytujících se v krvi. Dále pak objasňuje pojem fenotypizace buněk a v poslední kapitole úvodu pak popisuje citlivost jednotlivých krevních buněčných populací na ionizující záření. V kapitole 3 pak porovnává vybrané laboratorní metody, které se běžně používají k separaci buněk krve – centrifugace, rozetové testy, imunomagnetická separace buněk a sortování pomocí průtokové cytometrie. V experimentální části je uveden seznam použitých chemikálií, pomůcek a přístrojů. Dále je zde popsán experimentální zvířecí model, postup při ozařování myši, sortování, imunofenotypizace a analýza výstupních dat. Výsledky a diskuze jsou popsány na 11 stranách. Práce je doplněna 41 odkazy na odbornou literaturu, z které 11 odkazů je v angličtině. Seznam zkratk je uveden v úvodu práce. Práce je ukončena přílohou, která popisuje princip průtokové cytometrie.

Cílem práce bylo porovnat dvě vybrané separační metody – gradientovou centrifugace a sortování na průtokovém cytometru – ve vztahu k životnosti buněk periferní krve, a stanovení relativního zastoupení T lymfocytů v krvi, která byla 24 hodin před analýzou ozářena *in vivo*. Práce je srozumitelně sepsaná, zvláště bych chtěla vyzvednout teoretickou část, i když tak nebyla nazvána. Autorka podává velmi přehledný a podrobný popis jednotlivých buněčných populací včetně barvených obrázků, což kvalitu této části ještě

podtrhuje. Také metodická část včetně popsané analýzy dat dává jasné a srozumitelné informace. Ve výsledkové části postrádám graf nebo tabulku, která by přímo porovnávala obě zvolené metody separace, což bylo cílem práce. Tabulky uvedené ve výsledcích porovnávají ozářené a neozářené buňky. Slovní porovnání je sice uvedeno v kapitole Diskuze, nicméně si myslím, že by to mělo být uvedeno ve výsledcích. V diskuzi naopak postrádám obecnější zhodnocení výsledků se známými fakty popsanými v literatuře – obecně uváděná životnost buněk po separaci jednotlivými metodami, vliv ionizujícího záření (použitého v diplomové práci) na životnost jednotlivých buněk apod.

Hodnocení práce: Diplomová práce Bc. Evy Richterové splnila vytyčené cíle, je velmi dobře a srozumitelně sepsána a získané výsledky, poslouží jako základní podstatná informace pro další studie využívající separační metody a dává také potřebnou informaci pro práci s ozářenou krví a její následnou inkubací. Práci doporučuji k obhajobě a hodnotím ji jakou výbornou známkou 1.

Otázky:

1. Jsou vámi naměřená originální nebo lze podobné informace nalézt v literatuře?
2. Jak byste tedy vysvětlila zvýšení relativního zastoupení ozářených T lymfocytů po separaci metodou průtokové cytometrie?
3. Kterou z testovaných separačních metod byste doporučila pro rutinní použití a proč?

V Hradci Králové dne 18. května 2012



Pplk. RNDr. Zuzana Kročová, Ph.D., v.r.
Fakulta vojenského zdravotnictví UO
Hradec Králové