Mgr. Lenka Zárybnická
samostatný vědecký pracovník
Fakulta vojenského zdravotnictví Univerzity Obrany
Třebešská 1575
500 01 Hradec Králové

# *Posudek vedoucího 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

**Vedoucí diplomové práce:** Mgr. Lenka Zárybnická

Předložená práce byla řešena jako magisterská práce, má celkem 94 stran. Skládá se z literárního úvodu (43 stran textu), experimentální části a výsledků (21 stran), diskuze práce (2 strany) a závěru (1 strana). Graficky je doplněna 47 obrázky a fotografiemi. Text je doplněn o 12 stran příloh. Literatura obsahuje 41 citací.

**Cílem** předkládané diplomové práce Bc. Evy Richterové je posouzení vlivu výběru separační metody na složení (zastoupení T-lymfocytů) a životnost lymfocytární a monocytární populace separované z periferní krve myšího experimentálního modelu vystaveného ionizujícímu gama záření. Byl srovnán vliv separace uskutečněné prostřednictvím gradientové centrifugace metodou Histopaque a třídění buněk založené na principu průtokové cytometrie.

**V teoretické části** práce je uvedena charakteristika krevních elementů se zaměřením na jejich vývoj v organizmu. Informace o leukocytech jsou doplněny o imunofenotypický profil myších a lidských lymfocytů a základní rozdělení leukocytů z hlediska vnímavosti k ionizujícímu záření. Dále jsou zde přehledně shrnuty vybrané laboratorní metody určené k separaci krevních buněk.

**V experimentální části** byla z periferní krve myšího experimentálního modelu společně separována lymfocytární a monocytární populace buněk, a to metodou hustotního

gradientu (Histopaque) a technikou průtokového třídění buněk. Krev byla odebírána kontrolním neozářeným zvířatům a dále myším 24 hodin po *in vivo* ozáření. V buněčné suspenzi krevních elementů bylo metodou průtokové cytometrie stanoveno zastoupení mrtvých monocytů a lymfocytů a dále procentuální zastoupení T-lymfocytů ($CD3^+$ lymfocyty). V části věnované výsledkům jsou v rámci každé separační techniky statisticky porovnána data stanovená před separací, okamžitě po separaci lymfocytů a monocytů, a následně po 24 hodinové inkubaci. Výsledná data potvrdila, že obě separační techniky ovlivňují buňky z hlediska zastoupení živých a mrtvých buněk. Průtokové třídění zvyšuje zastoupení mrtvých buněk v separované suspenzi, metoda Histopaque vykazuje spíše snížení jejich zastoupení. V průběhu inkubace pak procento mrtvých buněk dle očekávání vzrůstá více u ozářených krevních vzorků. Nejvýznamnějším zjištěním je skutečnost, že v důsledku separace na průtokovém třídiči buněk dochází ke zvýšení zastoupení T-lymfocytů na dvojnásobek, ovšem pouze v ozářeném krevním vzorku.

Z celkového pohledu je práce sepsána přehledně a srozumitelně. Vyhodnocení výsledků odpovídá znalostem studenta magisterského stupně studia.

**Závěrem** konstatuji, že diplomová práce obsahem i rozsahem splňuje podmínky kladené na magisterské práce, a její zadání bylo splněno. Proto navrhuji předloženou diplomovou práci **přijmout** k obhajobě a hodnotím ji klasifikačním stupněm **výborně.**

V Hradci Králové dne 16. května 2012

Mgr. Lenka Zárybnická, v.r.
Fakulta vojenského zdravotnictví UO
Hradec Králové