

Oponentský posudek diplomové práce:

## HODNOCENÍ TESTŮ BUNĚČNÉ VIABILITY *IN VITRO*

*Autor:*

**Bc. Petra Boudková**

*Vedoucí diplomové práce:*

doc. RNDr. Tomáš Roušar, Ph.D.

*Konzultant diplomové práce:*

Mgr. Jan Čapek

Diplomová práce Bc. Petry Boudkové je zaměřena na aktuální téma, kterým je studium a testování buněčné viability v *in vitro* podmínkách. Konkrétně se práce zabývá vztahem mezi buněčnou viabilitou a změnami koncentrace hlavního intracelulárního antioxidantu glutathionu u vybraných buněčných linií ovlivněných modelovými toxicky působícími látkami.

Hlavním cílem diplomové práce bylo popsat vztah buněčné viability a intracelulární koncentrace glutathionu u suspenzní buněčné linie Jurkat a adherentní buněčné linie A549. Buňky těchto buněčných linií byly ovlivněny cisplatinou, diethylmaleátem, dimethylsulfoxidem a tert-butylhydroperoxidem. Úvodní teoretická část diplomové práce shrnuje přehledně oxidační poškození buněk, zdůrazněno je především působení reaktivních forem kyslíku a volných radikálů. V návaznosti na možné oxidační působení a s ním spojené buněčné poškození je vyzdvížena role buněčného antioxidačního systému, včetně úlohy nejvýznamnějších enzymů. Toto zhodnocení plynule navazuje na samostatnou kapitulu týkající se struktury, vlastností a významu glutathionu. Další kapitoly teoretické části pak shrnují testy pro posuzování buněčné viability a mechanismy působení modelových toxinů. Shrnutí toxicity modelových toxinů je zpracováno stručně, výstižně a přehledně. Experimentální část a výsledková část práce jsou rozpracovány do dílčích podkapitol, které velmi vhodně přispívají k přehlednosti celé práce. Z vlastního postupu práce je patrné, že její časová náročnost byla poměrně velká a to zejména díky potřebě kontinuální kultivace buněčných linií.

Předložená diplomová práce má rozsah 78 stran, přičemž teoretické informace jsou podloženy 137 citacemi publikovanými převážně v zahraničních odborných časopisech. Praktická část diplomové práce je vhodně doplněna grafickým znázorněním naměřených výsledků, avšak bylo by přínosné ji ještě obohatit například o obrázky či fotografie zmiňovaných buněčných linií. Po formální stránce má práce velmi dobrou úroveň a její

uspořádání je přehledné. Jedinou připomínkou k formální úpravě diplomové práce je opakovaný výskyt předložek a spojek na konci řádků. Z pohledu jazykové stránky lze říci, že je práce napsána srozumitelně, ačkoliv se v ní vyskytuje řada vět a souvětí, která by z pohledu čtenáře práce mohla být formulována „citlivěji“ a jazykově čitelněji. Po praktické a odborné stránce je práce zdařilá a je přiměřeného rozsahu.

#### **Otázky do diskuse pro autora:**

1. Při nasazování buněk do 96-ti jamkové destičky jste použila pro buněčnou linii A549 koncentraci 15 tis. buněk na jamku a pro buněčnou linii Jurkat 60 tis. buněk na jamku. Na základě čeho byly tyto počty buněk pro nasazování zvoleny?
2. Co bylo kritériem pro volbu modelových toxinů používaných při ovlivnění buněk?
3. V diskusi diplomové práce píšete, cituji: „*Zde nastala hypotéza, že pokles hladiny GSH pod 30 % by mohl být pro buňky smrtelný.*“ Z textu diskuse však není jednoznačně patrné, na základě čeho byla hranice 30 % zvolena. Pokuste se to prosím objasnit.
4. Dokázala byste na základě provedené literární rešerše posoudit, zda buněčné linie A549 a Jurkat jsou vhodným modelem pro provedené testování oxidačního působení?

Oponovaná diplomová práce ve své teoretické části přehledně shrnuje problematiku oxidačního poškození buněk, testování buněčné viability a zpracovává a vysvětluje základní pojmy, principy a vazby nutné k jednoduchému porozumění praktické části. Praktická část pak splňuje vytyčené cíle uvedené v zadání, zpracovává problematiku vztahu buněčné viability a hladiny glutathionu srozumitelně a po obsahové stránce je kvalitním dílem. Na tomto základě tedy diplomovou práci Bc. Petry Boudkové **doporučuji k obhajobě.**

Příloženou práci hodnotím známkou: **A**

V Pardubicích dne 24. 5. 2019

---

Mgr. Jiří Handl