

## POSUDEK ŠKOLITELE DIPLOMOVÉ PRÁCE

Využití testu Mouse Lymphoma Assay (MLA) při hodnocení genotoxicity chemických látek.

Autor: Bc. Jitka Špínková

Autorka si zvolila za cíl své diplomové práce zhodnotit možnosti testování genotoxického potenciálu chemických látek pomocí dvou metod - Mouse Lymphoma Testu (MLA) a *in vitro* mikronukleus testu (MNT). V první řadě je třeba vyzdvihnout zvolené téma, které je v českých podmínkách zcela nové. S MLA testem, běžným v USA, nejsou v ČR žádné zkušenosti a MNT je prováděn pouze na jednom až dvou pracovištích. Vývoj nových léčiv vyžaduje v rámci preklinického zkoušení také hodnocení genotoxického potenciálu testované látky. Dnes máme k dispozici čtyři validované testy pro toto hodnocení (AMES, CHA, MNT, MLA), přičemž potenciální nové léčivo musí být otestováno minimálně dvěma z těchto čtyř testů. Legislativní požadavky lékových regulačních autorit se v Evropě (EMA) a USA (FDA) mírně odlišují, kdy právě MLA je v USA na rozdíl od Evropy standardním testem. Vzhledem k tomu, že farmaceutický trh se stále více globalizuje, lze očekávat, že požadavky na provádění MLA testu se budou objevovat stále častěji i v Evropě.

Autorka ve své práci podrobně popsala obě metody jak z hlediska teoretického, tak i z hlediska praktického provedení. Pro nácvik a zavedení metodiky byly zvoleny dvě látky s předpokládanou různou mírou genotoxického účinku – formaldehyd a kyselina mukobromová. Vzhledem k nemožnosti konzultovat zkušenosti s jiným pracovištěm, kladně hodnotím přístup autorky ve chvílích, kdy buňky pro MLA test nerostly dle očekávání a kdy bylo nutné hledat nové přístupy k metodice. To že metodika MLA nakonec nebyla zvládnuta a provedena, není vinou autorky, ale omezeného časového období pro experimentální práci, během kterého se bohužel nepodařilo problémy vyřešit. Nepochybuji, že při dostatku času by analytickým přístupem autorka nakonec problémy překonala a vyřešila.

Ponecháme-li stranou nedořešený MLA test, byla experimentální část práce zvládnuta bez větších problémů. Zajímavý je slabě pozitivní (genotoxický) výsledek MNT testu s formaldehydem, obecně podezříváným z mutagenity, ačkoliv jeho mutagenita či kancerogenita nebyla dosud uspokojivě prokázána. Škoda, že tento výsledek nebylo z časových důvodů možno ověřit opakováním testu a také pomocí MLA testu.

Jako slabinu práce vidím zpracování závěru, kdy zde zcela chybí informace o výsledcích testů s testovanými látkami. Také je sporné konstatování o nevhodnosti nahrazení mikronukleus testu MLA testem. To nebylo cílem. Každý z genotoxických testů indikuje mutagenní účinky na jiné úrovni a proto by cílem mělo být zvolení vhodné kombinace minimálně dvou testů pro zhodnocení případného mutagenního účinku testované látky.

Po formální stránce k práci nemám zásadnějších výhrad. Přehled literatury uvádí 50 zdrojů, považuji jej za dostatečný, ačkoliv zdrojů zaměřených přímo na MLA by mohlo být více. V práci s literaturou jsou patrné mírné mezery, do jisté míry je to dáno nejednotností metodiky v minulosti a tedy obtížnou porovnatelností výsledků různých autorů. Kvalitu práce mírně snižuje zpracování výsledků a diskuse, které by bylo možno zpracovat poněkud rozsáhleji a podrobněji.

**Celkové hodnocení:** Bc. Jitka Špínková se pokusila vytvořit svým způsobem novátorské dílo a i přes jen částečné splnění cílů předložila kvalitní práci, a rozhodně ji doporučuji k obhajobě s klasifikací velmi dobrou.

V Konárovicích, 21. května. 2013

Mgr. Martin Šlais Ph.D.  
Vedoucí výzkumu a vývoje  
MediTox s.r.o.

## VYJÁDŘENÍ KONZULTANTA DIPLOMOVÉ PRÁCE

Název práce: ***Využití testu Mouse Lymphoma Assay (MLA) při hodnocení genotoxicity chemických látek***

Autor diplomové práce: **Bc. Jitka Špínková**

Vedoucí diplomové práce: **Mgr. Martin Šlais, Ph.D.**

Konzultant diplomové práce: **RNDr. Dagmar Jírová**

Garant za KBBV: **Šárka Štěpánková, Ph.D.**

Diplomová práce splňuje formální náležitosti.

Se zněním posudku externího školitele souhlasím.

V Pardubicích 28.5.2013



Mgr. Šárka Štěpánková, Ph.D.