

Název rigorózní práce **Studium cytotoxicity potenciálních antituberkulotik s využitím vybraných metod na jaterní a ledvinné buněčné linii**

Uchazeč **Mgr. Simona Katrnošková**

Oponent **Mgr. Pavel Bárta, Ph.D.**

Posudek oponenta rigorózní práce

Autorka se v předkládané rigorózní práci zabývala sledováním cytotoxického působení vybraných látek s potenciálem antimykobakteriálního účinku na buňky lidské buněčné linie jater a ledvin, které představují kritické orgány citlivé na antituberkulotická léčiva. Celkově se použilo 5 látek, tři na bázi salicylanilid diethyl fosfátu, jedno na bázi trifluormethyl-benzoové kyseliny a poslední jako standardní látka 4-amino-2-hydroxybenzoová kyselina. Předkládaná studie především zkoumá analytickou schopnost komerčně dostupných metod pro posouzení viability buněk, cytotoxického účinku zkoušených látek a možnost indukce buněčné apoptózy. V úvodu své experimentální práce autorka optimalizuje množství buněk použitých v experimentu na 96jamkové destičce. Hlavní část práce pak testuje vliv 4 vybraných nově připravených léčiv v porovnání se zavedeným antituberkulotickým léčivem (4-amino-2-hydroxybenzoová kyselina). V závěru autorka porovnává použité metody pro stanovení viability, cytotoxicity a apoptózy buněk. Výsledkem je poměrně výrazné cytotoxické působení testovaných látek v porovnání se standardně používaným léčivem. Testované látky demonstrovaly vyšší hepatotoxický potenciál oproti nefrotoxickému. Vzhledem k vysoké cytotoxicitě látek založených na bázi salicylanilid diethyl fosfátu a jejich naopak nízkému antituberkulotickému účinku autorka hodnotí tyto látky jako nevhodné pro antimykobakteriální terapii. V rámci porovnání použitých metod mezi sebou byla prokázána jejich vzájemná korelace. Diskuse předkládané práce dostatečně hodnotí dosažené experimentální výsledky. Reference jsou řádně uváděny v textu práce s ohledem na použité informace a uváděná tvrzení. Grafická a jazyková úprava je na odpovídající úrovni rigorózní práce. Teoretická část shrnuje informace o testovaných látkách a použitých metodách.

K předložené práci mám následující dotazy a připomínky:

1. U metody stanovení cytotoxicity jste provedla u buněk výměnu média za médium čerstvé. Bylo také bez FBS jako pro ostatní metody?
2. U všech použitých metod mi chybí, jaké konkrétní koncentrace testovaných látek jste použila.
3. Na straně 22 se zmiňujete o použitých pasážích buněčných linií pro vámi provedené experimenty. Domníváte se, že by počet pasáží mohl mít vliv na posouzení cytotoxicity u vámi použitých buněčných linií?
4. V rámci optimalizace počtu buněk použitých v experimentech jste provedla 48-hodinovou inkubaci. Proč jste se rozhodla pro tak dlouhou inkubaci, když jste použila 24-hodinovou inkubaci u stanovení viability, cytotoxicity a apoptózy?
5. V diskusi uvádíte hypotézu, že čím vyšší byla lipofilita látky, tím více látka působila cytotoxicky. Domníváte se, že by vyšší lipofilita mohla také zvýšit antimykotický účinek dané látky v organismu?

Rigorózní práce je obohacující experimentální prací, která zhodnotila cytotoxický vliv 4 potenciálních antimykotických léčiv a navíc pomohla s hodnocením komerčně dostupných metod na poli in vitro testů buněčné viability, cytotoxicity a apoptózy pro budoucí podobné experimentální práce. Rigorózní práce splňuje kritéria pro její doporučení k obhajobě a k udělení titulu pharmaciae doctor.

