

Oponentský posudek na disertační práci Mgr. Alžběty Filipové „Primární řasinka a její význam v reakci buněk na expozici ionizujícímu záření a cytostatikům“

Téma disertační práce Mgr. Filipové bylo vhodně zvoleno. Téma významu primární řasinky v reakci buněk na stres či poškození různého typu (ionizující záření, cytostatika, hladovění) je velmi zajímavé. Přitom primární řasinka jako objekt studia není obecně často pojednávána a jedná se tedy o studijní pole otevřené novým nálezům a z nich vyplývajícím závěrům o funkci a významu této buněčné organely. Nové poznatky pak mohou přispět jak k rozšíření spektra znalostí o reakci buňky na škodlivá agens a stres různého druhu, tak k uplatnění získaných vědomostí v navazujícím aplikovaném výzkumu, případně klinické praxi.

Metody, které Mgr. Filipová použila k vypracování disertace, byly vhodně vybrány. Buněčné linie, na nichž autorka pracovala, jsou výběrem z normálních i nádorových buněk, jenž umožňuje porovnání nálezů z těchto dvou základních buněčných typů. Na těchto buněčných liniích byly provedeny nejprve experimenty, charakterizující jejich reakci na ozáření, hladovění a působení vybraných cytostatik, jako jsou stanovení viability, proliferace, cytotoxicity a detekce apoptózy. S obdrženými nálezy a hodnoceny pak mohly být konfrontovány nálezy, dokumentující chování primárních řasinek pomocí fluorescenční a elektronové mikroskopie.

V rámci práce na disertaci získala Mgr. Filipová řadu kvalitních výsledků, které jsou novými poznatky. V této souvislosti vyzvedávám zejména stanovení ozařovací dávky a časového intervalu, v nichž bylo možno detekovat nejvyšší procento buněk myší myoblastické linie C2C12 a taktéž stanovení časového intervalu, v němž je možno detekovat nejvyšší procento buněk ovlivněných působením cytostatika doxorubicinu nebo sérového hladovění buněk. Vysokou kvalitu získaných nálezů a jejich zpracování lze odvodit také ze seznamu publikovaných prací Mgr. Filipové, jenž zahrnuje i časopisy jako PloS One, Cell Biology International, Journal of Cellular and Molecular Medicine a Journal of Physiology and Pharmacology.

Po formální stránce je posuzovaná disertační práce zpracována na vysoké úrovni. Autorka práci sepsala na 92 stranách, následovaných přílohami v podobě separátů publikací. Na krátký Úvod navazuje kapitola Současný stav problematiky svědčící o kvalitní teoretické připravenosti autorky. Po stručném uvedení cílů následuje podrobně popsaná metodika

experimentů. Výsledky získané v jednotlivých studiích jsou rovněž popsány detailně a srozumitelně. Diskusní část svědčí o schopnosti autorky uvádět získaná data do souvislostí. V seznamu literatury je 141 položek. Disertační práce obsahuje 31 obrázků, z nichž značná část jsou kvalitní mikrofotografie z fluorescenčního i elektronového mikroskopu, které přispívají ke srozumitelnosti i informativnosti.

Disertační práce přispívá nezanedbatelným způsobem k rozvoji oboru lékařská chemie a biochemie, jakož i molekulární biologie.

K disertační práci nemám zásadní připomínky. Několik málo níže uvedených drobných připomínek nikterak nesnižuje mé celkové vysoce pozitivní hodnocení práce.

- Na str. 9, ř. 11-12 se nachází podle mě ne zcela obratná formulace, že „porucha nebo ztráta primární řasinky vede k rozvoji ciliopathií a dalších civilizačních onemocnění“. Lze ciliopathii řadit k civilizačním onemocněním?

-V závěrečné části věty „Poškozená nebo chybějící primární řasinka...může...vést k rychlosti jeho růstu a vývoje)“ chybí pravděpodobně nějaké slovo.

-Dotaz nebo připomínku mám ke konstrukci grafů viability (WST-1 test) a grafů vyjádření buněčné smrti pomocí vyplavení laktát dehydrogenázy. V případě WST-1 testu je kontrolní hodnota vyjádřena vždy jako 100% bez rozptylu a s takto uvedenou kontrolní hodnotou se poté porovnávají průměrné hodnoty (s rozptyly) u dalších skupin. Přitom kontrolní hodnoty u grafů vyjádření buněčné smrti ukazují vždy poměrně vysoké procento mrtvých buněk. Jak se, prosím, s těmito údaji a s jejich zpracováním zacházelo?

Mám také jeden obecnější dotaz. Jak se autorka staví k interpretaci změn v počtech primárních řasinek? Jsou tyto změny primárně následkem poškození zářením aj. nebo jsou výrazem reakce buňky na tato poškození, jíž by se měla třeba regulovat proliferační odpověď?

Závěrem konstatuji, disertační práce Mgr. Alžběty Filipové splnila zadané cíle, je velmi kvalitní a prokazuje předpoklady autorky k samostatné tvořivé vědecké práci. Disertační práci doporučuji k obhajobě.

