

Posudek oponenta na diplomovou práci Kamily Balušikové

„Vliv dostupnosti sloučenin železa na expresi molekul zúčastněných v transportu netransferinových iontů železa: In vitro studie na lidských buněčných liniích K562 a Caco-2“.

Cílem práce bylo zjistit, jak při nefyziologických hladinách iontů železa v organismu dochází k regulaci jejich příjmu. Při řešení zadaného úkolu se autorka zaměřila na stanovení exprese pěti transportních proteinů železa, které se účastní v enterocytech duodena vstřebávání iontů železa. Praktickým výstupem mělo být využití takto získaných poznatků v diagnostice a terapii onemocnění spojených s poruchou metabolismu iontů železa. Expresi transportérů sledovala na úrovni mRNA metodou Real-Time PCR v tkáňových kulturách dvou lidských maligně transformovaných linií. Erytroleukemické buňky K562 byly zvoleny jako model buněk využívajících železo a Caco-2 jako typ transformovaných enterocytů.

Práce je psána přehledně v rozsahu 84 stran a má obvyklé členění. V literárním úvodu na 25 stranách podrobně popisuje transport iontů železa v organismu, ale v podkapitole 2.2.6. se podle mého názoru autorka mohla podrobněji rozepsat o vhodnosti obou buněčných linií jako modelu pro studium transportu železa. V metodice podrobně popisuje vše co souvisí s kultivací buněčných linií a se stanovením exprese transportérů až na metodu hodnocení výsledků 2^{-ddCt} , kde uvádí pouze citaci původní práce bez uvedení principu metody. Autorka při řešení zadaného úkolu zvolila relevantní metodické přístupy a získala řadu zajímavých výsledků. Chtěl bych ocenit, že studentka zvládla celou řadu náročných metodik od práce s tkáňovými kulturami až po PCR. Poslední kapitola nazvaná **závěr** by byla výstižněji nazvána **souhrn výsledků** a pouze poslední odstavec této kapitoly odpovídá závěru.

K práci mám několik připomínek a otázku:

- 1) V textu autorka používá střídavě termín hefestin/hephaestin
- 2) V diskusi na str. 71 uvádí: ...jsme použili buněčnou linii Caco-2 (lidský kolorektální karcinom), jež reprezentuje buňky zajišťující absorpci iontů železa do organismu. To zřejmě neodpovídá skutečnosti, protože transport železa do organismu zajišťují duodenální enterocyty v tenkém střevu a ne maligně transformované enterocyty tlustého střeva, které jsou pouze modelem pro určitý typ buňky.
- 3) Může skutečnost, že Caco-2 jsou maligně transformovanou buněčnou linií, ovlivnit regulaci exprese sledovaných transportérů hladinou iontů železa?

Uvedené připomínky nesnižují kvalitu předložené práce, která splňuje podmínky kladené na práci diplomovou a doporučuji ji proto k dalšímu oponentnímu řízení.

V Praze dne 20. 5. 2006

Doc. RNDr. F. Novák, CSc.