



Univerzita Karlova v Praze  
Lékařská fakulta v Hradci Králové

OPONENTSKÝ POSUDEK NA DIPLOMOVOU PRÁCI

**Název diplomové práce:** Význam inhibice ATM, ATR a DNA-PK kináz v odpovědi buněk lidských fibroblastů na ionizující záření

**Práci zpracovala:** Bc. Helena Bednářová

Univerzita Pardubice, Fakulta chemicko-technologická

Akademický rok 2012/2013

Studijní program: N3912 Speciální chemicko-biologické obory

Studijní obor: Analýza biologických materiálů

**Vedoucí práce:** prof. RNDr. Jiřina Vávrová, CSc.

**Konzultant práce:** Mgr. Radim Havelek, PhD.

**Oponent:** doc. MUDr. Martina Řezáčová, PhD., Ústav lékařské biochemie, Lékařská fakulta v Hradci Králové, Univerzita Karlova v Praze

**Doporučení k obhajobě:** **Doporučuji**

**Posudek:**

Předkládaná diplomová práce má experimentální charakter. Autorka zkoumá vliv specifických inhibitorů ATM, ATR a DNA-PK na odpovědi lidských fibroblastů na ionizující záření. Práce na 92 stranách je standardně členěna, obsahuje 21 obrázků a grafů a 4 tabulky.

Teoretická část je napsána přehledně na 22 stranách. Obsahově odpovídá zadané problematice. Autorka zde shrnuje poznatky o biologických účincích ionizujícího záření na buněčné a molekulární úrovni a podrobně charakterizuje tři kinasy, jejichž inhibice u ozářených buněk byla cílem výzkumu. Další část pojednává podrobně o použitých inhibitorech. Literární úvod je doplněn sedmi převzatými schématy. Z literárního úvodu vplynuly hlavní cíle práce - nalézt takový inhibitor, který má co největší účinek na nádorové buňky, ale zároveň malý vliv na buňky normální. Text je věcně správný, byť se nevyhnul (pochopitelným) začátečnickým neobratnostem; obsahuje minimum překlepů v míře v tomto typu prací běžné.

Metodicky je tato práce na velmi vysoké úrovni a autorka ovládla řadu náročných metodik, včetně fluorescenční mikroskopie, průtokové cytometrie a western blotu. Použité metody jsou popsány velmi podrobně na 23 stranách textu. Výsledky jsou prezentovány ve formě tabulek, grafů a mikrofotografií. Výsledková část popisuje vliv inhibitorů na změny proliferace a viability fibroblastů po ozáření, na tvorbu radiací indukovaných ložisek, na distribuci buněk v jednotlivých fázích buněčného cyklu buněk a na množství p53, Chk2, P-Chk2(Thr68) a Cdc25A po ozáření v přítomnosti jednotlivých inhibitorů. Na výsledkovou část navazuje čtyřstránková diskuse, shrnující získané výsledky v kontextu soudobého poznání. Autorka získala řadu zajímavých a dobře



**Univerzita Karlova v Praze**  
**Lékařská fakulta v Hradci Králové**

doložených výsledků, v doprovodném textu se ani zde nevyvarovala jistých neobratností a nejednotnosti (řada informací ze sekce výsledky patří spíše do metodické části; inhibitory nemají vliv na DNA analýzu, ale na průběh buněčného cyklu - str. 71; nejednotnost v terminologii - např. Chk2-CHK2-CHK2 na str. 77; otazníky v obr. 21 atp.), což však nijak nesnižuje vědeckou kvalitu práce.

Z předložené diplomové práce je zřejmé využití celé škály špičkových metodických přístupů, jsou velmi dobře popsány metody práce a je zřejmé dobré pochopení těchto náročných metod. Literatura obsahuje 110 citací, kde autorka dodržela citační normy.

**Závěr:**

Práce byla naplánována, provedena a sepsána vědecky odpovídajícím způsobem a přinesla nové vědecké poznatky týkající se molekulárních mechanismů reparace radiačního poškození u nenádorových lidských fibroblastů. Byly použity moderní metodiky v souladu se současnými světovými trendy. Předložená práce

**v y h o v u j e**

všem předpisům stanoveným pro diplomové práce. Proto ji navrhuji **přijmout** a vzhledem ke kvalitě předkládané práce ji hodnotím známkou

**v ý b o r n ě .**

**K autorce mám pak následující dotaz:**

- 1) Není třeba pro posouzení vhodnosti inhibitorů ATM, ATR či DNA-PK jakožto radiosenzibilizátorů při radioterapii Vaše výsledky porovnat s působením inhibitorů na ozářené nádorové buňky či tkáně?

.....  
doc. MUDr. Martina Řezáčová, PhD.

v Hradci Králové dne 15.5.2013