

Oponentský posudek diplomové práce Bc. Andrey Jakubičkové „Optimalizace kultivačních podmínek hepatocytů v primární kultuře“.

Diplomová práce vychází z potřeb pracoviště, na kterém diplomantka realizovala její experimentální část.

Práce je rozčleněna na teoretickou, metodickou a výsledkovou část. V teoretickém úvodu autorka stručně poukazuje na stavbu a funkce jater a uvádí výhody a nevýhody tradičních modelových systémů pro studie v *in vitro* podmínkách. Zaměřuje se na popis kultivačních podmínek pro primární kultury hepatocytů a klíčové faktory ovlivňující přežívání a funkční stav buněk. Zcela adekvátně se přitom opírá o nálezy získané z literatury, jejíž seznam je přehledně uveden. Cíle práce jsou jednoznačně definovány a uvedené výsledky s nimi korespondují. Autorka ve výsledkové části hodnotí viabilitu buněk, apoptózu a míru oxidačního stresu k posouzení stavu buněčné kultury a zvolení optimální denzity buněčné kultury a doby seedingu. Vyzdvihují, že se autorka nezaměřila čistě na analytické metody hodnocení, ale spektrum metod rozšířila i o morfologické posouzení buněk s použitím mikrofotografií pořízených ve fázovém kontrastu. Získané výsledky autorka správně interpretuje a přiměřeně diskutuje.

Po formální stránce se jedná o zdařilou práci, kde mám pouze tuto připomínku:

- v popisu metodiky izolace hepatocytů uvádíte, že perfúze jater probíhá pod tlakem vyvinutým spádem, avšak podle dokumentujícího obrázku č. 13 je perfúzní tekutina vháněna do jater perfúzní pumpou.

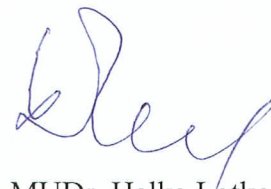
Následné otázky by měly být autorem zodpovězeny:

- Jakou výhodu s ohledem na interpretaci výsledků sledujete ve stanovení aktivity kaspázy 3 nejen intracelulárně, ale i v extracelulárním prostředí?
- Jako optimální denzitu buněk pro 12 jamkové destičky jste určila 350 000/jamku. Proč jste při optimalizaci doby seedingu nepracovala s touto denzitou, ale zvolila jste vyšší?

Diplomová práce splnila jednoznačně hlavní cíl – optimalizovat kultivační podmínky – denzitu buněk a dobu seedingu pro primární kultury hepatocytů. Výsledky jsou bezpochyby důležitým praktickým vstupem pro experimenty využívající tento model.

Předloženou diplomovou práci doporučuji k obhajobě a hodnotím ji známkou

- výborně -



doc. MUDr. Halka Lotková, Ph.D.
Univerzita Karlova
Lékařská fakulta v Hradci Králové

V Hradci Králové 27. 5. 2019