

Oponentský posudek diplomové práce Bc. Andrey Arnoldové „Studium vlivu epigallokatechingallátu na hepatocyty potkana in vitro“.

Diplomová práce se zaměřuje na stanovení koncentrací epigallokatechingallátu, které budou na hepatocytech vykazovat toxický účinek. Epigallokatechingallát (EGCG) je známý především jako antioxidant a tvoří významnou součást zeleného čaje, rovněž tak potravinových doplňků určených např. k hubnutí. Bohužel, literární údaje ukazují, že může působit i prooxidačně, zejména ve vysokých dávkách, a vést k poškození buněk. Práce diplomantky tak aktuálně reaguje na nové poznatky a přispívá k jejich specifikaci s použitím primární kultury hepatocytů potkana.

Práce je rozčleněna na část teoretickou, metodickou a výsledkovou. V první teoretické části autorka seznamuje se základy stavby a funkce jater, s jejich poškozením, s účinkem hepatotoxických látek na játra. Druhá teoretická část je věnována EGCG a polyfenolům obecně, ve třetí se hovoří o modelech používaných pro studium toxicity látek. Metodická část je adekvátně zaměřena na popis měřících a hodnotících postupů použitých v diplomové práci včetně statistického zpracování. Výsledky jsou prezentovány ve formě grafů se stručným popisem výsledků, se zřetelným označením statisticky významných rozdílů. Autorka k hodnocení cytotoxicity používá měření aktivity LDH a nutno vyzdvihnout, že hodnocení neprovádí pouze extracelulárně v médiu, ale jako LDH leakage, což zpřesňuje hodnocení. Diplomantka však nevychází v závěrech pouze z tohoto testu, ale je zde proveden i další test používaný pro hodnocení cytotoxicity - WST-1. Určitý rozdíl ve výsledcích obou testů autorka uspokojivě vysvětlila v diskusi. Vedle cytotoxicity jsou hodnoceny i vybrané parametry oxidačního stresu - produkce ROS a tvorba MDA. Čtenář měl možnost se v teoretických kapitolách s mechanizmy vedoucími k tvorbě těchto látek seznámit a v diskusi jsou jejich změny okomentovány. K hodnocení dopadu kultivace hepatocytů s EGCG je zcela v souladu se současnými požadavky poskytnut i popis morfologických změn na buňkách doložený mikrofotografiemi. Práce získává ještě více na aktuálnosti uvedením výsledků mitochondriálního membránového potenciálu za použití fluorescenčního barviva a mikroskopie s fázovým kontrastem. V diskusi autorka uvádí nejen komentář k vlastním výsledkům, ale zcela správně se opírá i o literární údaje.

K práci mám tyto formální připomínky:

- k lepší orientaci v teoretické části práce by autorka měla zvolit adekvátnější názvy a volit kompaktnější řazení kapitol, aby zřetelněji vyzněl význam obsahu
- citace by měly být aktuální, není možné na základě závěru z r. 1999 usuzovat, jaká je míra použití lidských hepatocytů v experimentech
- množství překlepů nepřesahuje akceptovatelný rámec, ale některých chyb je třeba se vyvarovat - monooxygenázy (str.22), cytotoxicita (str. 36)
- statistické údaje u grafů by měly být jednoznačné, ne pod zkratkami (AVG, +STD), počet vzorků ve skupině by měl být uveden zřetelněji nebo alespoň uveden odkaz na něj

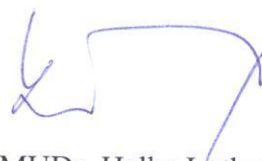
Následné věcné připomínky a otázky by měly být autorem zodpovězeny:

- v metodickém postupu jsem nenalezla, kolik izolací hepatocytů bylo provedeno k hodnocení nebo zda jsou výsledky z jediné izolace
- při hodnocení parametrů za 24 a po té za 48 hod. není uvedeno, zda výsledky za 48 hod. odrážejí změny za celých předchozích 48 hod. nebo se měření provádělo každých 24 hod. izolovaně
- autorka se zabývá cytotoxickým účinkem EGCG; v textu by mělo být zřetelně, vyjádřeno, z jakého důvodu byl ke studiu zvolen model využívající hepatocyty

potkana. Mohla by to autorka uvést včetně toho, jaké další využití jejích výsledků lze očekávat?

Diplomová práce splnila jednoznačně hlavní cíl – stanovit koncentrace epigallokatechingallátu vykazující toxický účinek na primární kultuře potkaních hepatocytů. Předloženou diplomovou práci doporučuji k obhajobě a hodnotím ji známkou

- výborně minus



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

V Hradci Králové 22. 5. 2014