

## *Oponentský posudek diplomové práce*

**Autor:** Bc. Ondřej Černík

**Název:** Vyhodnocení alternativního toxikologického in vitro testu oční dráždivosti metodou HET-CAM v kombinaci s Trypan blue

**Studijní obor:** Ochrana životního prostředí

Předkládaná diplomová práce je zaměřena na testování potenciálního poškození oka, které může být indukováno při expozici oka chemickými látkami. Speciálně pak byla zaměřena na tzv. alternativní metody testování, tj. metody, které k detekci poškození nevyužívají laboratorních zvířat. Konkrétně pak v experimentální části byla hodnocena jedna z těchto recentních metod a sice metoda CAM-TBS, která využívá chorioalantoidní membrány slepičího vejce jako cílové tkáně a barvení tropanovou modří, které usnadňuje kvantifikaci poškození vyvolaného testovanou chemickou látkou.

Deklarovaným cílem práce bylo jednak zpracování literární rešerše pro oblast alternativních testů oční dráždivosti. V experimentální části pak bylo cílem ověření použitelnosti alternativní metody CAM-TBS v detekci poškození oka vyvolaného expozicí chemickým látkám a porovnání výsledků získaných touto metodou s výsledky dalších dvou alternativních metod a sice s metodou HET-CAM (metoda se stejnou cílovou tkání jako CAM-TBS) a metodou BCOP, která využívá k testování izolované hovězí oko.

### **Poznámky a formální připomínky:**

- Str.16 dole: Cíl práce je poněkud neobratně formulován, na první pohled činí dojem, že cílem práce je pouze rešerše
- Str.18 dole: termín „předprodejní“ není běžně používán, je to zřejmě nějaký autorův novotvar
- Str.20, ř.11: „... došlo k validaci“ opět nevhodná formulace – k validaci nedochází, validace se provádí, navíc termín validace není zde, kde se vyskytuje v textu poprvé, vysvětlen.
- Str.25: Koncepce 3R – v originální práci *The Principles of Humane Experimental Technique (1959)* Russel a Burch uvádějí humánní laboratorní postupy pod názvy replacement, reduction, and refinement čili nikoliv replace, reduce ....
- Str. 31: “Organotypické metody – izolované enukleované orgány“, opět terminologická poznámka – neznám jiný enukleovaný orgán používaný v testování chemických látek, než oko, čili zde by býval stačil nadpis „Organotypické metody“
- Str. 55 Tab.7: termín „potencionál“ je nesprávný, správně je „potenciál, potenciální“
- str. 64 Tab. 15: – není vysvětleno, co znamená „v toleranci“, pravděpodobně to znamená v rozmezí uvedeném ve sloupci Publikované výsledky

## Shrnutí:

Práce má celkově 104 stran, z toho teoretická část čítá 44 stran, experimentální část 36 stran, 6 stránek zahrnují diskuse a závěry a konečně literatura zabírá 27 stran a obsahuje více než 175 citací. Práce obsahuje také 17 obrázků, které velmi výstižně charakterizují probíranou problematiku.

Práce je velmi dobře, srozumitelně a přehledně sepsána. Zpracovaná rešerše je velice podrobná a zahrnuje množství relevantních zdrojů, které se týkají nejen bezprostředních údajů o třech hodnocených alternativních metodách (CAM-TBS , HET-CAM BCOP) ale zasazuje testování oční dráždivosti do širšího kontextu celého toxikologického tetování chemických látek, Zabývá se historií a vývojem testování oční dráždivosti od klasických metod na králíkovi až po současné alternativní testy, přičemž vysvětluje také genesi alternativních metod s ohledem na stále sílící snahy veřejnosti odstranit týrání laboratorních zvířat. V neposlední řadě oceňuji také tu část literární rešerše, která vysvětluje anatomickou stavbou lidského oka, protože právě tyto informace jsou klíčové pro pochopení potenciálních účinků expozice oka cizorodým chemickým látkám

V experimentální části si zaslouží pozornost značný objem vykonané práce, a pečlivost, se kterou byla práce vykonána. Téma si vyžádalo množství realizovaných experimentů. Pro ověřování metody bylo otestováno 6 látek a pro následné porovnání výsledků u tří alternativních metod bylo nutno mít k dispozici výsledky celkem u 19 chemických látek, tj. cca 60 experimentálních výsledků.

V závěru práce poskytuje zajímavé srovnání výsledků dosažených alternativními metodami s výsledky klasického testu na králících in vivo. Poměrně nečekaně se zde ukazuje, že modifikace CAM testu s trypanovou modří (CAM-TBS) je ve významně lepší shodě s výsledky tetování in vivo než originální HET-CAM test.

Celkově je možno posudek uzavřít takto:

Veškerá použitá literatura byla řádně citována, v experimentální části autor prokázal, že je schopen kvalitní samostatné práce.

Všechny mnou uváděné poznámky a komentáře je možné považovat za poměrně nevýznamné vzhledem k vysoké hodnotě předkládané práce.

Nenalezl jsem žádnou závažnou chybu, která by bránila přijetí této diplomové práce k obhajobě.

Předloženou diplomovou práci Bc. Ondřeje Černíka doporučuji k obhajobě a navrhuji klasifikovat známkou

--- A ---.

V Rybitví, 20. 5. 2021

.....  
RNDr. Rostislav Čihák, CSc.  
VUOS a.s.

Centrum toxikologie, ekologie a analytiky