

Oponentský posudek diplomové práce:

STUDIUM TOXICITY TĚŽKÝCH KOVŮ V SUSPENZNÍCH BUNĚČNÝCH SYSTÉMECH

Autor: **Bc. Tereza Hrušovská**
Vedoucí diplomové práce: RNDr. Jiří Handl, Ph.D.
Konzultant diplomové práce: Mgr. Jan Čapek, Ph.D.

Diplomová práce Bc. Terezy Hrušovské je zaměřena na studium toxicity těžkých kovů v suspenzních buněčných systémech s využitím moderních bioanalytických metod a jejím hlavním cílem bylo stanovení cytotoxicity CdCl_2 a HgCl_2 *in vitro* na zvolené suspenzní buněčné linii pomocí hodnocení buněčné viability a koncentrace glutathionu.

Práce má rozsah 80 stran. V úvodní teoretické části se autorka věnuje charakterizaci buněčných modelů se zaměřením na lidské suspenzní buněčné linie a dále rozebírá mechanismy toxicity kadmia a rtuti. Zmiňuje také analytické metody hodnocení cytotoxicity těžkých kovů. Teoretická část je zpracována pečlivě a s logickou návazností a je vhodně doplněna 7 obrázky a 2 tabulkami. Občas se vyskytují lehce neobratné formulace dané pravděpodobně překladem ze zahraničních zdrojů, kterých autorka použila úctyhodných 99. Dovolím si pár drobných poznámek. Na str. 34 je uvedeno: „Důležitou funkcí dýchacího řetězce mitochondrií je zajištění homeostázy pomocí oxidativní fosforylace a vytvoření energie v podobě ATP.“ Mitochondrie energii netvoří (1. termodynamický zákon), ale pouze přeměňují na jinou formu. Na stejné straně je také uvedeno: „Kadmium dokáže ovlivnit funkci daných proteinů inhibicí aktivity enzymů dýchacího řetězce. Zejména se jedná o enzym LDH, ATPázu, glutathionperoxidázu a superoxiddismutázu.“ Ani jeden z těchto enzymů není součástí dýchacího řetězce.

Z vlastního postupu práce je patrné, že její časová náročnost byla poměrně vysoká. Použité metodiky jsou popsány stručně a dostatečně. Jen na str. 49 – Příprava zásobního a pracovní roztoku cisplatiny se píše, že ze zásobního roztoku cisplatiny o koncentraci 1 mmol/L byl připraven 10x naředěný pracovní roztok o koncentraci 500 $\mu\text{mol/l}$.

Výsledky jsou prezentovány pomocí přehledných grafů a tabulek a jsou vhodně diskutovány v kontextu s dostupnou odbornou literaturou. Opět si dovoluji jen pár drobných poznámek. Na straně str. 59 je uvedeno: „Po expozici buněk s 25 μM HgCl_2 vidíme zvýšení dehydrogenázové aktivity od 4 hod, ale signifikantní zvýšení lze sledovat až po 24hod

inkubaci. V tabulce ale vidíme po 4 hod inkubaci aktivitu cca 12% kontrolních hodnot, nemůže se tedy jednat o zvýšení. Autorka chtěla patrně naznačit, že se aktivita dehydrogenáz postupně zvyšuje, nicméně to nemá statisticky podloženo a formulace je nešťastná. Navíc zde není uveden 24 hod interval, který je pravděpodobně měřen v jiném experimentu. Obdobně je výsledkem zmiňován i v diskusi. Co se týká diskuse, není dle názoru oponenta vhodné opírat se zejména o práci z roku 2006, která byla publikována v časopise „The journal of alternative and complementary medicine“ a pojednává o homeopatickém účinku kovů, který neprokázala. Na str. 66 je uvedeno: „Proto je důležité se zamyslet, zda odlišné podmínky kultivace, nasazení rozdílné denzity buněk do mikrotitrační destičky, využití jiných postupů přípravy a metod může být příčinou těchto rozdílných účinků. Na to by se dalo říct vhodně k tématu práce – na to vemte jed 😊. Autorka se pak v diskusi pravděpodobně vzhledem k nedostatku vhodné literatury snaží porovnávat výsledky s daty, která byla naměřena na jiných modelech. Naopak bych ocenila, jak si autorka poradila s diskusí ohledně zvýšené koncentrace glutathionu.

Po formální stránce má práce velmi dobrou úroveň a její uspořádání je přehledné. Z jazykové hlediska je práce napsána srozumitelně a množství překlepů, gramatických chyb a neobratných vyjádření je minimální. Po praktické a odborné stránce je práce zdařilá a je přiměřeného rozsahu.

Otázky do diskuse pro autora:

1. V úvodu na str. 34 píšete: „Na karcinogenezi indukovanou Cd má vliv zvýšení propustnosti membrány a rovněž pokles mitochondriálního membránového potenciálu (MTP).“ Zajímalo by mě, zde je známo, jakým mechanismem zvýšení propustnosti membrána a pokles MPT ovlivňuje karcinogenezi?
2. Na str. 38 je zmíněno: „Světová zdravotnická organizace zveřejnila informaci, že amalgámové výplně vypouštějí přibližně denně 2-28 mg par Hg.“ Jaký je tedy současný názor na amalgámové výplně a jejich vliv na zdraví?
3. Překvapilo mě výrazné zvýšení viability Jurkat buněk při inkubaci s 25 uM HgCl₂ z přibližně 15 % po 6 hod inkubace na cca 80 % po 24 hod inkubaci. Jak si toto zvýšení vysvětlujete? Byl 24 hod interval měřen ve stejném experimentu?

Závěrem lze říci, že oponovaná diplomová práce splňuje vytyčené cíle uvedené v zadání, zpracovává problematiku toxicity těžkých kovů *in vitro* srozumitelně a po obsahové stránce je kvalitním dílem. Na tomto základě tedy diplomovou práci Bc. Terezy Hrušovské **doporučuji k obhajobě.**

Přiloženou práci hodnotím známkou: **A**

V Pardubicích dne 25. 5. 2023

Mgr. Pavla Staňková, Ph.D.