

Posudek oponenta

Autor práce: Bc. Kateřina Ječmeňová

Název práce: Vývoj a charakteristika linií rezistentních k purinovým a pyrimidinovým cytostatikům

Typ práce*: diplomová

Kritérium hodnocení		Hodnocení						
		A	B	C	D	E	F	nelze hodnotit
1	rozsah práce, vyváženost rozsahů jednotlivých částí a jejich strukturovanost	X						
2	kvalita literární rešerše (např. množství použitých původních pramenných zdrojů, vhodnost výběru)		X					
3	naplnění cílů podle zadání práce a poznatků z literární rešerše	X						
4	správnost a úplnost legend u obrázků a tabulek (např. srozumitelnost bez zřetele k ostatnímu textu, vysvětlení značek, jednotky uváděných veličin)	X						
5	správnost používání citačních odkazů (např. přítomnost necitovaných údajů, dodržování jednotného stylu citací)	X						
6	výstižnost souhrnu práce v českém a anglickém jazyce	X						
7	grafická úprava textu a obrázků	X						
8	jazyková a stylistická úroveň, respektování platné nomenklatury a terminologie		X					
9	volba vhodných experimentálních metod	X						
10	srozumitelnost a výstižnost popisu používaných metod	X						
11	úroveň zpracování experimentálních dat		X					
12	adekvátnost interpretace dílčích experimentálních dat	X						
13	diskuze (souhrn získaných výsledků a jejich začlenění do kontextu dosavadního výzkumu)	X						

Poznámka 1: Pokud charakter práce nedovoluje použít některé z Kriterií hodnocení, použijte sloupec "nelze hodnotit"

Poznámka 2: Hodnocení křížkujte

Poznámka 3: Do výsledné známky se započítávají jen hodnotitelné položky

*- vyberte „bakalářská“ nebo „diplomová“

Známka
(A-F)

A

Konkrétní připomínky a dotazy (možno připojit samostatný list), slovní zhodnocení proč oponent hodnotil tímto způsobem (zejména při horším známkování)

Závěr: práci doporučuji k obhajobě

Diplomová práce Kateřiny Ječmeňové je zaměřena na přípravu buněčných linií rezistentních k vybraným purinovým a pyrimidinovým cytostatikům. Jako parentální byly zvoleny buněčné linie CCRF-CEM a K562 odvozené z hematologických malignit.

Teoretická část práce zahrnuje literární rešerši shrnující aktuální poznatky o molekulárních mechanismech účinku purinových a pyrimidinových cytostatik a dále se zaměřuje na problematiku rezistence nádorových buněk k cytostatikům obecně a detailněji pak k nukleosidovým derivátům.

V rámci experimentální části byla v souladu s cíli diplomové práce připravena série K562 a CCRF-CEM buněčných linií rezistentních k vybraným purinovým a pyrimidinovým cytostatikům. Rezistence byla prokázána srovnáním hodnot IC₅₀ pro jednotlivá cytostatika u parentální a odvozené rezistentní linie. Dále byla provedena charakterizace připravených rezistentních linií stanovením exprese klíčových ABC transportérů Pgp a MRP1. K dalšímu objasnění možného mechanismu rezistence byl proveden funkční test na aktivitu nukleosidových transportérů. V poslední části práce byly na rezistentních liniích testovány vybrané deriváty s potenciálem možných nových protinádorových léčiv.

Dosažené originální výsledky jsou vhodně komentovány v obsáhlé diskuzi a shrnuty v závěru práce.

Celkově je diplomová práce zpracována pečlivě, téměř bez formálních chyb. Komentáře a připomínky uvádím níže.

- Zkratka „ROS“ pro látku Roskovitin mi přijde zvolena trochu nešťastně, vzhledem k tomu, že se stejná zkratka standardně používá ve vědecké literatuře pro označení reaktivních kyslíkových radikálů (z angl. reactive oxygen species)
- Str. 16 – up/down-regulace – vhodnější vyjádřit českým ekvivalentem zvýšená/snížená exprese
- Str. 26/Graf 1 – chybí směrodatné odchylky
- V kapitole 5.2 jsou prezentovány hodnoty IC₅₀ pro jednotlivá cytostatika u buněčných linií selektovaných fludarabinem, 6-merkaptopurinem, 6-thioguaninem nebo cytarabinem a tyto jsou následně srovnávány s IC₅₀ stanovenými u mateřské linie CCRF-CEM, resp. K562. Na základě srovnání jsou prezentována v komentáři k tabulkám a dále v diskuzi cytostatika, vůči kterým získaly jednotlivé selektované linie rezistenci. V některých případech autorka nevzala v potaz překryv směrodatných odchylek u hodnot IC₅₀, kterým se stává rozdíl statisticky nevýznamným (např. IC₅₀ pro 6-thioguanin u linie odvozené od CCRF-CEM, selektované cytarabinem nebo IC₅₀ pro 5-fluorouracil u linie odvozené od K562, selektované 6-merkaptopurinem).
- V kapitole 5.3, Tab. 8 je uvedena nesmyslná hodnota (předpokládám, že mediánu fluorescence – není v práci blíže specifikováno) pro vzorek CCRF-CEM (viz. 1 řádek). Na základě vypočtených poměrů vzorek/IK lze usuzovat, že došlo k překlepu a správně měla být uvedena hodnota 25,93.

Celkově hodnotím práci, navzdory výše uvedeným připomínkám, jako zdařilou a **doporučuji ji k obhajobě.**

K diplomové práci mám následující dotazy:

1. Byly testovány látky PNH173, PNH192 a AB61 rovněž na rezistentních liniích odvozených od linie K562? Jaká byla případně jejich citlivost v porovnání s rezistentními liniemi odvozenými od CCRF-CEM buněk?
2. Pro studium možné inhibice nukleosidových transportérů u vyselektovaných rezistentních buněčných linií byla zvolena linie odvozená od CCRF-CEM, selektovaná 6-merkaptopurinem. Co bylo důvodem pro výběr právě této linie.
3. Není plánováno do budoucna připravit alespoň od některých rezistentních linií klony, které by mohly eliminovat změny rezistence v čase u heterogenní populace?

V Olomouci dne: 11.6.2020

Podpis: