

**UNIVERZITA KARLOVA**  
**FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ**  
Katedra biochemických věd

Studijní program: Zdravotnická bioanalytika

**Posudek oponenta diplomové práce**

Autor/ka práce: **Bc. Mikešková Gabriela**

Vedoucí/školitel/ka práce: Ing. Barbora Szotáková, Ph.D

Konzultant/ka práce:

Rok obhajoby: 2021

Oponent/ka práce: Ing. Lenka Langhansová, Ph.D.

Název práce:

**Studium vlivu albendazolu v životním prostředí na antioxidační systém jetele  
lučního (*Trifolium pratense*)**

---

Rozsah práce: počet stran: 79, počet obrázků: 32, počet tabulek: 21, počet citací: 97

Práce je: experimentální

- a) Cíl práce je: zcela splněn
- b) Jazyková a grafická úroveň: velmi dobrá
- c) Zpracování teoretické části: velmi dobré
- d) Popis metod: velmi dobrý
- e) Prezentace výsledků: dobrá
- f) Diskuse, závěry: dobré
- g) Teoretický či praktický přínos práce: velmi dobrý

Doporučuji diplomovou práci k uznání jako práci rigorózní

Případné poznámky k hodnocení:

V teoretické části je velmi stručně, ale věcně objasněna problematika významu anthelmintik, jejich praktického využití u hospodářských zvířat a praktický dopad na životní prostředí i na vznik rezistence parazitických červů. Je pravdou, že vliv anthelmintik na rostliny není příliš studovaným tématem, cíl a výsledky této diplomové práce mají tedy velký význam pro další vědecké zkoumání této problematiky. Teoretická část dále popisuje metabolismus xenobiotik v rostlinách a stresové reakce, které tyto kontaminanty u rostlin mohou vyvolat. Podrobněji se pak věnuje monitorovaným stresovým markerům v prezentované studii. Čtivost teoretické části bohužel narušuje občas krkolomná terminologie, pravděpodobně vycházející ze slovosledného překladu z angličtiny v odborné literatuře. Nicméně rešeršní část práce dokládá, že se studentka v tématu orientuje a umí pracovat s odbornou literaturou. Cíle jsou jasně definovány, výsledky jsou prezentovány zbytečně duplicitně, ale věcně interpretovány a diskutovány s odbornou literaturou. V Závěru diplomové práce se konstatuje náplň experimentální studie, ale není zde definován souhrnný závěr vyplývající z výsledků práce.

Celkově studentka velmi dobře zvládla jak práci s odbornou literaturou, experimentální design, aplikaci vhodných metodik a vhodnocení výsledků i jejich interpretaci.

Dotazy a připomínky:

Použitá terminologie může někde vyznít jako zavádějící nebo nejasná, či zbytečně obecná. Např. obecný termín "kontaminovaná hnojiva" (hnojiv je několik typů) by bylo lépe nahradit

pro tuto práci konkrétnějším termínem "kontaminovaná chlévská mrva", nebo obecný termín "vybraná rostlinná barviva" lze nahradit termínem "fotosyntetické pigmenty", jelikož právě těmito barvivy se práce zabývá a popisuje je v teoretické části. Konstatování, že chlorofyl a a b jsou nejznámější a nejdůležitější může být také zavádějící. Přesnější by bylo uvést, že tyto dva typy chlorofylů se vyskytují ve všech rostlinách. Matoucí je termín "rostlinné pigmenty karotenoidů..." na str. 24. - karotenoidy nemají, ale jsou pigmenty. Přesnější by tedy bylo jednoduché konstatování "Karotenoidy jsou syntetizovány...".

V kapitole 2.1. jsou anthelmintika rozdělena podle cílové skupiny parazitů, ale chybí rozdělení chemické, či podle mechanismu účinku. V kapitole 2.1.1 je toto podrobně popsáno pro benzimidazolová anthelmintika, kam patří albendazol, logicky by tedy čtenář mohl zajímat jaké další skupiny anthelminik existují, jejich stručný popis a zástupci.

V předposledním odstavci kapitoly 2.1.1 je uvedeno, že společným podáním benzimidazolů se stravou lze vyřešit sníženou absorpci účinných látek z gastrointestinálního traktu. Nechává to ale otevřenou otázku, v čem řešení oproti orálnímu podání samotného léku spočívá. Nebo zde není zmíněno jestli je problém v intravenózním podání.

Práce je psaná v češtině, citace v textu mají být tedy uváděny ve formě jméno prvního autora "a kol." ne "et al."

Kapitola 4.4.2 a 4.4.3 popisuje experimentální design založený na aplikaci kontaminovaného trusu k rostlinám jetele. Je tedy uveden popis, jak byly ošetřeny rostliny stresovým faktorem, chybí však popis jak byla nastavena kontrolní skupina rostlin. V popisu obr. 10 je uvedeno, že znázorňuje i umístění centrálních rostlin, ale na obrázku samotném vidím pouze umístění dvou variant kontaminovaného trusu.

V kapitole 4.4.4: Z takto "připravených" rostlin... - rostliny byly zatím jen odebrané a skladované, ne nijak zpracované. Má tedy být: Z takto "odebraných" rostlin byly "připraveny" (nikoli "vytvořeny") ... pro měření aktivity antioxidantních systémů a pigmentů Jetele lučního (zde chybí "a obsahu pigmentů" - pak by bylo chybně chápáno, že byla měřena aktivita pigmentů).

Kapitola 4.5 objasňuje, že aktivita enzymů je uváděna v U/mg. Z kontextu vyplývá, že na mg proteinu, ale ve výsledcích by to mělo být přesně uvedeno, tedy použit jednotku U/mg proteinu, aby bylo jasné, že nejde o přepočtené na mg čerstviny.

Kapitola 4.6.1 obsahuje chybu ve vzorci pro výpočet celkového chlorofylu - znaménko plus je zaměněno za minus. Ve vzorci pro výpočet celkového obsahu karotenoidů je chybný koeficient k chlorofylu b, má být 95.15.

V kapitole 5 jsou zbytečně vyjádřeny všechny dosažené výsledky duplicitně, jednak numericky ve formě tabulky a podruhé graficky. Kapitola 5.2 je zbytečně rozdělena do podkapitol, a některá konstatování jsou opakovaná. V každé podkapitole je zbytečně opakované vyjádření i pro způsob statistického vyhodnocení výsledků. Mělo být popsáno v metodické části v samostatné kapitole. Aktivity jednotlivých enzymů mohly být vyjádřeny v jedné souhrnné tabulce či v sloučených grafech. Dávaly by tak čtenáři i přehlednější pohled na získané výsledky. To samé platí pro kapitolu 5.4. a v kapitole 5.5 by mohly být sloučeny obrázky 29-31 do jednoho, i když opět opakují numerické vyjádření v tabulce 20.

Kapitola 5.5.1. je nelogicky uvedena jako podkapitola kapitoly 5.5. - měla být uvedena jako samostatná kapitola 5.6. Ve výpočtu obsahu chlorofylů a karotenoidů došlo evidentně k chybě. Hodnoty jsou řádově tak vysoko, že by to znamenalo, že list jetele je složen pouze z chlorofylů a a b a z karotenoidů (součet se pohybuje okolo 1mg/mg čerstviny), kde jen 80-90% by měla být voda. V tabulce 21 je uveden jako název hodnoceného parametru "chlorofyl

a/b", což je chybné. Parametr chlorofyl a/b je relativní hodnota a rozhodně není v jednotkách mg/g. V obrázku 32 je již správně parametr uveden jako chlorofyl a+b. V diskusi na str. 67 se píše, že k výpočtu poměru chlorofylu a/b bylo využito rovnice podle Lichtenthalera, ale taková rovnice není a tento parametr v práci vypočítán nebyl, tedy ve výsledcích chybí. Studentka tady zaměnila pojem celkový obsah chlorofylů s poměrem chlorofylu a/b.

V diskusi na str. 67 je chybně interpretovaná práce Oprise a kol. - Studie neprobíhala in vitro (pak by bylo netypické použít "zálivku" jako ošetření), ale in vivo v květináčích.

Otázky:

1. Můžete stručně charakterizovat další skupiny anthelmintik, mechanismus jejich účinku a zástupce?
2. Jaký byl experimentální design kontrolní skupiny jetelů?
3. Aktivita glutathionperoxidázy a glutathionreduktázy nemohla být stanovena, metodika byla ověřena použitím vzorku cytosolu potkana. Proč nebyla ověřena jiným rostlinným vzorkem aby se ověřilo, zda je metodika vhodná pro rostlinnou matrici? Vyzkoušeli jste aplikaci vzorku s vyšší koncentrací proteinu?
4. Jak se řádově pohybuje kvantitativní obsah chlorofylu a, chlorofylu b a karotenoidů v zelených částech rostlin?
5. Poměr chlorofylu a/b je jedním z významných markerů stresu v rostlinách. Jaký je typický poměr chlorofylu a ku chlorofylu b u rostlin v dobré kondici a ve stresu? K jakým hodnotám dojdeme u kontrolních a ošetřených rostlin jetele z výsledků vaší studie?

**Celkové hodnocení, práce je: velmi dobrá, k obhajobě: doporučuji**

V Hradci Králové dne 20.5.2021

.....  
podpis oponentky / oponenta