

**UNIVERZITA KARLOVA  
FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ**

Katedra biochemických věd

Studijní program: Bioanalytická LDZ

**Posudek oponenta diplomové práce**

Rok obhajoby: 2024

Autor/ka práce: **Bc. Magdaléna Koropečková**

Vedoucí práce: prof. Ing. Barbora Szotáková, Ph.D.

Konzultant/ka: RNDr. Ladislava Schröterová, Ph.D.

Oponent/ka: Mgr. Jan Čapek, Ph.D.

Název práce: **Oxidativní stres v lidských fibroblastech po expozici titanovými a grafenovými nanočásticemi**

Rozsah práce: 80 stran, 6 obrázků, 25 tabulek, 58 citací

**Hodnocení práce:**

- |  |             |
|--|-------------|
| a) Odborná úroveň a zpracování teoretické části:               | velmi dobrá |
| b) Náročnost použitých metod:                                  | velmi dobrá |
| c) Zpracování metodické části (přehlednost, srozumitelnost):   | dobré       |
| d) Kvalita získaných experimentálních dat:                     | dobrá       |
| e) Zpracování výsledků (přehlednost, srozumitelnost):          | dobré       |
| f) Hodnocení výsledků včetně statistické analýzy:              | dobré       |
| g) Myšlenková úroveň a rozsah diskuse výsledků:                | velmi dobrá |
| h) Srozumitelnost, výstižnost a adekvátnost závěrů:            | velmi dobrá |
| i) Splnění cílů práce:   | velmi dobré |
| j) Množství a aktuálnost literárních odkazů:                   | velmi dobré |
| k) Jazyková úroveň (stylistická a gramatická úroveň):          | velmi dobrá |
| l) Formální úroveň práce (členění textu, grafické zpracování): | dobrá       |

Doporučuji diplomovou práci k uznání jako práci rigorózní

Případné poznámky k hodnocení:

Diplomová práce je členěna obvyklým způsobem. V teoretické části se autorka věnuje popisu oxidačního stresu, glutathionu, jakožto nejvýznamnějšího intracelulárního antioxidantu, a v poslední části popisu grafenových a titanových nanočástic. V teoretické části postrádám zevrubnější popis funkce a syntézy glutathionu a především mi chybí výčet a popis dalších metod pro stanovení intracelulární koncentrace glutathionu.

V druhé části diplomové práce nalezneme popis cílů práce, experimentální část, výsledky, diskuzi a závěr. Po formální stránce práce obsahuje minimum překlepů, i když v některých částech se autorka nevyhnula poněkud neobvyklým formulacím. Samotné připomínky a dotazy k textu diplomové práce jsou shrnuty níže.

Dotazy a připomínky:

K textu diplomové práce mám následující připomínky:

Str. 11) Věta: „Radikály se snaží získat nepárové elektrony odtržením od jiných sloučenin...“ je napsána chybně. Ve skutečnosti je to zcela výhradně elektron párový, kdy jeho odtržením dochází právě k oxidaci.

Str. 17) V textu autorka uvádí: „Tato metoda udává informaci o koncentraci celkového GSH (GSH + GSSG) ve vzorcích.“ Vzhledem ke zkratce GSH, která označuje redukovanou formu glutathionu, bych se tomuto označení vyhnul, protože je matoucí. Použil bych pouze označení koncentrace celkového glutathionu.

Str. 20) Věta „Životaschopnost buněk je definována jako počet zdravých buněk ve vzorku.“ je nepřesně napsána. Pojmenování „zdravá buňka“ je nepřesné. Správně by mělo být napsáno buňka fyziologická či patologicky nezměněná.

Str. 34) V kapitole 4.3.1 autorka píše, že na základě získaných dat byla vypočítána průměrná směrnice a odkazujete na tabulku 11, která je umístěna až na Str. 39 a netýká se směrnic, ale ředění roztoků pro stanovení kalibrační křivky GSSG. Dále pak tabulka 14 (Str. 43), tabulka 15 (Str. 45), tabulka 16 (Str. 47), tabulka 17 (Str. 49), tabulka 18 (Str. 52) a tabulka 19 (str. 53) nemají uveden odkaz v textu.

Str. 47) V celé výsledkové části se opakují stejné výsledky ve formě tabulek, grafů a kumulativních grafů. Např. na Str. 47 autorka uvádí výsledkovou tabulku. Stejně výsledky autorka následně zpracovala do podoby grafu (Str. 48) a kumulativního grafu (Str. 51).

Vzhledem ke skutečnosti, že práce je zaměřena na fluorimetrické stanovení, bylo by vhodné v celé práci u všech výsledků uvádět vlnové délky Ex/Em.

Celkově musím shrnout, že po formální a stylistické stránce je práce spíše průměrná. Tabulky napříč celým textem nejsou zarovnané, popisy tabulek jsou nepřehledné. Obrázky použité v práci jsou spíše špatné kvality a nízkého rozlišení. Příště bych doporučil vyexportovat obrázky ve vyšší kvalitě a popř. si obrázky týkající se např. struktury glutathionu vytvořit sám s použitím speciálního chemického programu. Dále jsem se v práci setkal s jistou neuniformitou psaní citací v textu, kde autorka používá celkem 3 různé formáty zápisu (Str. 11, 12 a 24) a to: (Juan et al. 2021); (Phaniendra et al., 2015) a (Liao et al, 2018). Nevhodným členěním textu, tabulek a obrázků vznikají nevyužitá místa na jednotlivých stránkách, což ale snižuje odbornou úroveň celé práce.

K textu diplomové práce mám následující dotazy:

1. Na Str. 16) autorka píše, že molekula MCB hladce proniká do buněk, které nemají porušenou integritu buněčných membrán. Může autorka vysvětlit, čím je to způsobeno, např. jestli sonda MCB využívá nějaké specifické membránové transportéry?
2. V kapitole 5.1.1.2 autorka optimalizovala přidavek sondy MCB (o různých koncentracích) přímo do kultivačního média u buněk neovlivněných a ovlivněných 50  $\mu\text{M}$  cis-platinou. Může autorka upřesnit, po jakou dobu byly buňky vystavené účinku cis-platiny?
3. Str. 45, tabulka 15. Jakým způsobem autorka hodnotila linearitu závislosti fluorescence na čase při použití sondy MCB v intervalech 0–3600 a 1800–3600 sekund?
4. Může autorka vysvětlit, jak byla naměřená data statisticky zpracována? U většiny výsledkových grafů autorka nevedla směrodatnou odchylku u kontrolních buněk. Jako příklad mohu uvést grafy 15 a 16, kde je absence směrodatné odchylky u kontrolních buněk, ale u následujícího kumulativního grafu (graf 17) právě pro tyto předešlé kontroní buňky jsou hodnoty směrodatných odchylek uvedeny.
5. U tabulky 18 autorka uvedla hodnoty procentuálního zastoupení GSH po 24hod inkubaci buněk s grafenovými nanočásticemi. Zejména u částic 15G1 a pozitivní kontroly 30Pt bych očekával, že výsledky budou signifikantně odlišné ve vztahu ke kontrolním buňkám, když přihlédneme ke směrodatným odchylkám. Může autorka vysvětlit, proč tomu tak je?

**hodnocení, práce je: velmi dobrá**

**k obhajobě: doporučuji**

V Pardubicích

9. září 2024

podpis oponenta/ky