

Posudek práce

předložené na Matematicko-fyzikální fakultě
Univerzity Karlovy v Praze

- posudek vedoucího posudek oponenta
 bakalářské práce diplomové práce

Autor: **Bc. Adam Stíbal**
Název práce: **Fluorescenční detekce kožních nádorů**
Studijní program a obor: **Biofyzika a chemická fyzika**
Rok odevzdání: **2013**

Jméno a tituly oponenta: **Prof. RNDr. Jan Hála, DrSc.**
Pracoviště: **Katedra chemické fyziky a optiky MFF UK**
Kontaktní e-mail: **hala@karlov.mff.cuni.cz**

Odborná úroveň práce:

- vynikající velmi dobrá průměrná podprůměrná nevyhovující

Věcné chyby:

- téměř žádné vzhledem k rozsahu přiměřený počet méně podstatné četné závažné

Výsledky:

- originální původní i převzaté netriviální kompilace citované z literatury opsané

Rozsah práce:

- veliký standardní dostatečný nedostatečný

Grafická, jazyková a formální úroveň:

- vynikající velmi dobrá průměrná podprůměrná nevyhovující

Tiskové chyby:

- téměř žádné vzhledem k rozsahu a tématu přiměřený počet četné

Celková úroveň práce:

- vynikající velmi dobrá průměrná podprůměrná nevyhovující

Slovní vyjádření, komentáře a připomínky vedoucího/oponenta:

Předkládaná práce je součástí systematického výzkumu fyzikálních základů fotodynamické terapie (PDT) prováděného řadu let na Katedře chemické fyziky a optiky. Diplomant se věnoval především využití měření fluorescence protoporfyrinu IX (PpIX), který biosyntetizuje v tkáni po aplikaci methylesteru kyseliny aminolevulové. Hlavní část výzkumu byla provedena na jizvách potkanů *in vivo*. Srovnávací experimenty byly provedeny i na roztocích homogenizátu myších fibroblastů a organických roztocích protoporfyrinu IX.

Práce je rozdělena do 6 částí. Po jednostránkovém úvodu následuje kapitola nazvaná "1. Teorie", ve které jsou na 21 stranách popsány základní principy a současný stav dané problematiky. Další kapitola "2. Materiály a metody" popisuje na 6 stranách použité materiály, postupy včetně prací s buněčnými tkáněmi a živými zvířaty. Aparatuře, detailnímu popisu klíčových experimentů včetně kalibrace spektrální citlivosti spektrometru je věnována třetí kapitola (strany 27-30). Výsledky a diskuse jsou obsahem čtvrté části (strany 31-46), která končí dvoustránkovým shrnutím. V tabulce (4.1. Přehled doby vyhasínání fluorescence PpIX a doby dominance intenzity fotoprotoporphyrinu (Ppp), hlavního fotoproduktu PpIX a v obrázku (4.18. Dvě hlavní složky spekter potkana č. 7 v místě 13 získané pomocí metody SVD) vidím těžiště diplomové práce. Následuje jednostránkový Závěr a 55 literárních odkazů.

Případné otázky při obhajobě a náměty do diskuze:

Formální poznámky:

Podotýkám, že Literatura (str. 48 až 52) není uvedena v seznamu na str. 1

Na Obr. 1.1. : Jablonského diagram energetických hladin a přechodů mezi nimi [2] není vyznačena v textu diskutovaná zpožděná fluorescence a triplet-tripletní absorpce!

Kde jsou vysvětleny zkratky ALAD, PBDG, UROaS, UROD, ALAS, CoA, FECH a PPO užití v Obr. 1.4: Schéma biosyntézy hemu.?

Co je to relativní absorpance na Obr. 1.5: Terapeutické okno kůže, absorpční spektra vody, deoxy- a oxyhemoglobinu a melaninu v logaritmické škále [6]?

Kde jsou vysvětleny všechny zkratky užití v Obr. 1.7: Buněčné signální cesty vedoucí k apoptóze tkáně po PDT [37]?

Na straně 23, 5. řádek odshora odstraňte překlep: makroskopické slovem: makroskopické.

Na straně 24, 6. řádek odspoda: vysvětlete zda zkratka PPIX má asi být PpIX, nebo něco jiného.

Na straně 24 v textu k Obr. 1.10 odstraňte překlep: čas metabolizována na na PpIX [48]. slovy: částečně metabolizována na PpIX [48].

O úspěšně použité analýze metodou singulárního rozkladu (SVD, singular value decomposition) v programu Octave s cílem rozložit spektrum na spektra čistých složek není v kapitole **2. Materiály a metody** ani zmínka.

Dotazy:

Jakou veličinu jste měřil ve své práci Vy? Plošnou hustotu zářivého toku, neboli intenzitu I nebo fotonový tok J a proč?

Ve druhém odstavci kapitoly **1.5. PDT dozimetrie** se píše: "Přímá detekce fosforescence **PS** a $^1\text{O}_2$ je možná, ale pro slabou intenzitu vyžaduje měření citlivé a drahé vybavení, navíc pro dostatečný počet emitovaných fotonů pro detekci fosforescence $^1\text{O}_2$ je potřeba excitovat větší objem tkáně (10mm^3) [16]. To také znemožňuje přímou detekci singletního kyslíku pomocí optických vláken, jejichž efektivní detekční objem je menší než 1mm^3 ". [16=B. C. Wilson and M. S. Patterson. The physics, biophysics and technology of photodynamic therapy. Physics In Medicine and Biology, 53(9):R61{R109, May 2008.].

Není to v rozporu s výsledky měřeními, kterých jste se zúčastnil? Prosím, okomentujte!

Jak vypadá strukturní vzorec fotoprotoporphyrinu (Ppp), hlavního fotoproduktu PpIX vytvářeného při experimentech *in vitro* a *in vivo*?

Všechny fluorescenční obrázky (4.1. až 4.18.) mají osu Y označenou "Intenzita". Pro obrázky 4.1. až 4.17. se intenzity pohybují mezi 0-80 a 0-14 pro organické roztoky PpIX, mezi 0-50, 0-11, 0-4 pro homogenizáty myších fibroplastů a pro živé potkany mezi hodnotami 0-7, 0-5, 0-14, 0-30, 0-10, 0-3.5, 0-2.0, 0-2.5, 0-6, 0-30. O jaké jednotky se jedná (relativní nebo absolutní)? Jak je to s jejich srovnatelností?

Závěrem konstatuji, že diplomant splnil všechny vytčené cíle diplomové práce. Provedl důkladnou rešerši dosud publikovaných výsledků týkajících se fluorescenční detekce kožních nádorů. Seznámil se s ovládáním excitačních laserů a zvládl měření fluorescence pomocí vláknového spektrometru Avantes. Velké množství fluorescenčních dat naměřených *in vitro* i *in vivo* dokázal zpracovat a smysluplně vyhodnotit. Podařilo se mu pomocí měření rychlosti vybělování fluorescence fotoprotoporphyrinu (Ppp), hlavního fotoproduktu PpIX rozlišit zdravou tkáň od nezdravé.

Práci

doporučuji

nedoporučuji

uznat jako diplomovou/bakalářskou.

Navrhuji hodnocení stupněm:

výborně velmi dobře dobře neprospěl/a

Místo, datum a podpis vedoucího/oponenta: Říčany, 4. 9. 2013 prof. RNDr. Jan Hála, DrSc.