

**UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE**  
**FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ**

Katedra biochemických věd

Studijní program: Farmacie

**Posudek oponenta diplomové práce**

Oponent/ka: **RNDr. Lucie Zemanová, Ph.D.**

Rok obhajoby: 2016

Autor/ka práce: **Terézia Kúdelová**

Název práce:

**Detekcia oxidačného poškodenia DNA pomocou metódy comet assay**

---

Rozsah práce: počet stran: 96, počet grafů: 0, počet obrázků: 23,

počet tabulek: 20, počet citací: 60, počet příloh: 0

Práce je: experimentální

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

Případné poznámky k hodnocení:

Diplomová práce se zabývá oxidačním poškozením DNA, tudíž v teoretické části se diplomantka obšírně zabývá látkami způsobujícími oxidační stres i antioxidanty. Následuje zdařilý popis metod, které se používají pro detekci poškození DNA. Metodická část dobře popisuje provedené experimenty, zbytečně se zde opět objevují principy kometového testu, které jsou částečně řešeny již v teorii (a tam také patří). Výsledková část je velmi dlouhá (téměř 40 stran), veškeré výsledky jsou ale zdvojené, protože nejprve je uvedena tabulka hodnot a z těchto hodnot je pak vytvořen obrázek. Vhodnější by bylo zvolit jen jednu možnost prezentace a výsledky obšírněji okomentovat. Ať už ve výsledcích či diskusi mi chybí nějaké hlubší zhodnocení získaných výsledků. Použité literární zdroje jsou poměrně bohaté, včetně recentních článků. Diplomová práce je zbytečně dlouhá (celkem 96 str.), trochu rozvláklá, nepůsobí zcela kompaktně, ale je kvalitní.

Dotazy a připomínky:

V teoretické části bych vzhledem k zaměření práce uvítala část přímo o oxidativním poškození DNA, ne jen obecný odstavec o poškození DNA. Ani v jednotlivých podkapitolkách o kyslíkových/dusíkových radikálech se nezabýváte jejich rolí v oxidativním poškození DNA. Chybí zde informace o zlomech a modifikaci bazí, kterým se práce experimentálně věnuje.

Dokáže kometový test rozlišit jednořetězcové (SSBs) a dvouřetězcové zlomy (DSBs)? Na str. 27 píšete pouze o SSBs, na str. 41 uvádíte, že alkalická modifikace nedokáže odlišit SSBs a DSBs a ve výsledcích hovoříte pouze o poškození SSBs. Vysvětlete.

Jaké jsou rozdíly mezi např. mezi obr. 8 a obr. 9? Jde jen o zopakování experimentů? Proč se liší hodnoty v některých případech o více než 20% (např. u 2 mM GSH)?

Jak byly zvoleny koncentrace GSH? Proč se v některých experimentech používá až 32 mM koncentrace? Jakým způsobem vstupuje GSH do buněk? Ověřovali jste si nějak efektivitu vstupu testovaných látek do buněk? Je to popsáno v literatuře?

V práci chybí popis analogů GSH - GSH-A a GSH-B (uvedeny pouze názvy)? V čem je výhoda těchto syntetických analogů proti GSH?

Jak si vysvětlujete, že vyšší koncentrace GSH, GSH-A, GSH-B působí spíše prooxidačně?

Na str. 57 (a obr. 14) a str. 63 (a obr. 17) uvádíte, že analoga GSH byly testovány při extrémně nízkých koncentracích a uvádíte hodnoty 0-500 uM? Z čeho vycházíte? Takové hodnoty bych rozhodně nepovažovala za extrémně nízké.

Proč se u GSH, GSH-A a GSH-B sledoval pouze jejich vliv na poškození DNA zatímco u EGCG také vliv na reparaci poškozené DNA? Je zde nějaký hlubší důvod než časové omezení diplomové práce?

Jaké koncentrace EGCG lze dosáhnout v krvi/buňkách? Odpovídají koncentrace zvolené pro testování těmto hodnotám?

V práci není nikde zmíněno statistické hodnocení výsledků? Bylo provedeno a případně jak? Jeden z uvedených cílů práce je vytvoření hypotézy o mechanismu účinku testovaných látek, nicméně to v práci chybí. Můžete prosím uvést vytvořenou hypotézu?

Formátování seznamu literatury neodpovídá závazným pokynům, navíc ani zvolený styl není použit všude stejně

**Celkové hodnocení: velmi dobře, k obhajobě: doporučuji**

V Hradci Králové dne 20. 5. 2016

.....  
podpis oponentky / oponenta