

Oponentský posudek na diplomovou práci

Autor: Bc. Eliška Konopáčová

Název práce: Biomarkery oxidativního stresu využitelné při vyhodnocování testů ekotoxicity nanočástic na roupici *Enchytraeus crypticus*

Vedoucí práce: doc. Ing. Miloslav Pouzar, Ph.D.

Konzultant: Ing. Kateřina Hrdá

Oponent: doc. Mgr. Irena Lovětinská Šlamborová, Ph.D.

Cíl práce:

Cílem práce byl výběr a optimalizace biochemických testů pro citlivou detekci oxidativního stresu způsobeného nanočásticemi ZnO.

Struktura/členění práce:

Práce je členěna standardním způsobem na část teoretickou a experimentální. V teoretické části autorka provedla podrobnou a velmi kvalitní literární rešerši s využitím dostatečného množství správně citovaných literárních zdrojů. V této části zpracovala informace o vnějších vlivech a oxidativním stresu organismu. Kapitola je doplněna informacemi o přehledu testů toxicity průmyslově vyráběných nanočástic ZnO a jejich vlivem na oxidativní stres. V neposlední řadě jsou zde uvedeny informace o biochemických testech, které jsou použitelné pro bezobratlé živočichy.

Tato část je zpracována pečlivě, jednotlivé kapitoly na sebe logicky navazují, autorka se vyjadřuje srozumitelně (práce se velmi příjemně čte). Tato část neobsahuje žádné gramatické ani jiné nedostatky.

Experimentální část - autorka provedla velké množství experimentů (z hlediska různých koncentrací, expozičních časů aj.), ve kterých se snažila ověřit a optimalizovat biochemická stanovení pro spektrofotometrickou analýzu vybraných biomarkerů oxidativního stresu na zvoleném biologickém organismu (roupici *E. crypticus*). Popsané studie jsou vhodně doplněny studiem toxicity s ZnCl₂ a výsledky porovnány s nZnO, neboť po kontaktu s médiem se jak z nanočástic ZnO, tak i z ZnCl₂, uvolňují Zn⁺.

Experimentální část je opět zpracována přehledně a pečlivě, jednotlivé celky na sebe logicky navazují. Výsledky jsou vhodně doplněny obrazovou dokumentací a tabulkami. K této části nemám připomínky.

Literární zdroje, citace a jejich použití:

V práci je použito dostatečné množství správně citovaných literárních zdrojů. Nemám žádné připomínky.

Výsledky a jejich zhodnocení:

Metodiky, které se zabývají hodnocením toxicity jakýchkoliv nanočástic, jsou velice obtížné, protože neexistuje jednotný metodický postup testování. Výsledků z testů v této oblasti je velmi málo, jsou kusé a každý vědecký tým se zaměřuje pouze na úzkou oblast, přičemž výsledky jsou variabilní a obtížně srovnatelné. Díky současnému obrovskému nárůstu aplikace nanočástic a tím i jejich následnému uvolňování do životního prostředí, je nanejvýš aktuální, zabývat se problematikou standardizace testování jejich cytotoxicity. Díky rozdílné rozpustnosti a biotransformaci, schopnosti a snaze nanočástic vytvářet aglomeráty, které interagují s přítomnými půdními či vodními složkami včetně jejich biodostupnosti a vlastních transportů, je způsob vývoje testovacích metod velmi obtížný. V současné době testování ekotoxicky nanočástic nesplňuje požadavky environmentální relevance.

Výše uvedené platí i pro tuto hodnocenou práci, neboť, jak autorka uvádí, porovnání s dalšími pracemi nebylo možné, protože není k dispozici žádná studie, která by se zabývala analýzou toxicity nZnO, které jsou dispergovány v agaru a testování bylo prováděno na roupci *E. crypticus*. To samé platí i pro výsledky získané hodnocením vybraných biomarkerů oxidativního stresu. Nicméně lze konstatovat, že se autorce podařilo získat mnoho zajímavých výsledků, na které lze, v dalších studiích, navázat.

Formální úroveň:

Formální úroveň práce je na vysoké úrovni. Jednotlivé kapitoly jsou řazeny logicky tak, aby čtenář pochopil studovanou problematiku. Autorka se vyjadřuje srozumitelně. Práce je zpracována velmi pečlivě.

Splnění cílů práce:

Práce splnila zadané cíle, tedy zpracování podrobné literární rešerše se zaměřením na mechanismy vzniku oxidativního stresu, popis prakticky využitelných biomarkerů pro

hodnocení míry oxidativního stresu a poškození buněk, včetně návrhu testování (ověření) metodiky hodnocení biomarkerů oxidativního stresu v rámci testů ekotoxicky nanomateriálů na biologickém modelu – kroužkovci *Enchytraeus crypticus*.

Otázky a připomínky :

1. Jak správně uvádíte ve své práci, procesy oxidativního stresu mohou vyústit v buněčnou smrt. Jaké druhy buněčné smrti rozeznáváme, jaký je mezi nimi rozdíl?
 2. Při poškození DNA velmi často do procesu vstupuje protein p-53. Jaká je jeho funkce?
 3. Na str. 24 uvádíte, že nZnO jsou používány jako antibakteriální činidla. Jaký je mechanismus (mechanismy) účinku nZnO na bakteriální buňku (která je systematicky řazena mezi Prokaryota)?
 4. Byla ověřována velikost komerčně zakoupených nZnO?
-

Souhlasím s doporučením autorky práce z hlediska pokračování studií této nelehké problematiky, tedy prodloužit expoziční časy u roupic a rozšířit studium biomarkerů (alespoň o superoxid dimutázy).

Celkové hodnocení:

Práce má dle mého názoru vysokou odbornou úroveň, doporučuji jí k obhajobě

a hodnotím: **A**

V Liberci dne 25. 5. 2018

doc. Mgr. Irena Lovětinská Šlamborová, Ph.D.

