

## OPONENTSKÝ POSUDEK NA DIPLOMOVOU PRÁCI

**Název práce:** Nanočástice z kyseliny hyaluronové aplikované v systému *in vitro*: stanovení účinku na buněčných liniích po ozáření.

**Autor diplomové práce:** Bc. Diana Fluksová

**Vedoucí práce a konzultant práce:** RNDr. Lucie Korecká, Ph.D. a Mgr. Anna Lierová

**Pracoviště:** Univerzita Pardubice, Fakulta chemicko-technologická, Katedra biologických a biochemických věd

### **Posudek:**

Předkládaná diplomová práce má rozsah 102 stran včetně 15 obrázků 13 grafů a 4 tabulek. Práce je klasicky členěna. Diplomová práce je doplněna o seznam použitých zkratk. Literatura obsahuje celkem 139 recentních citací, z nichž většinu tvoří zahraniční literární zdroje, což značí schopnost diplomantky pracovat s odbornou literaturou.

Diplomantka se ve své práci zabývá studiem účinku nanočástic z kyseliny hyaluronové (HANPs) na radiačně indukovanou odpověď u buněčné linie plicních fibroblastů NHLF a u nádorových linií plicního karcinomu A549 a H1299 po ozáření.

Teoretická část práce je zpracována přehledně a zabývá se charakterizací ionizujícího záření a jeho účinku na buněčné úrovni, popisuje receptory pro kyselinu hyaluronovou a její význam v nádorové biologii. Pozornost je věnována shrnutí poznatků o nanočásticích a jejich využití. Samostatná kapitola je věnována nanočásticím z kyseliny hyaluronové a jejich využití v terapii nádorových onemocnění. Těžištěm práce je praktická část, ve které diplomantka popisuje použité experimentální metody, získané výsledky a vede diskuzi. Experimentální část práce byla dobře zvládnuta. Laboratorní techniky byly vhodně zvoleny a získaná data odpovídají vytyčeným cílům. Buněčné linie, s kterými diplomantka pracovala, jsou výběrem normálních i nádorových buněk, což umožňuje porovnání získaných výsledků. V diplomové práci byly použity nanočástice velikostech v rozmezí 115,8 nm - 169,9 nm, které byly aplikovány buňkám v koncentracích 1 mg/ml, 0,25 mg/ml, 0,1 mg/ml a 0,01 mg/ml. Na zvolených buněčných liniích byly provedeny experimenty charakterizující reakci na ozáření dávkami 4 Gy, 8 Gy a 15 Gy – stanovení viability za použití WST-1 testu. Nejvyšší viabilita byla stanovena diplomantkou při koncentraci HANPs 0,25 mg/ml u všech ozářených i neozářených buněk. U všech buněčných linií byla testována exprese markerů CD71, CD58,

CD44, CD90 pomocí průtokové cytometrie. Marker CD44 (hyaluronový receptor) byl detekován u všech použitých buněčných linií. Imunofluorescenční barvení a fluorescenční mikroskopie byla použita k vyhodnocení exprese markeru CD44 a fluorescenčně značených nanočástic aplikovaných buněčným liniím. Získaná data jsou přehledně zpracována do grafů a potvrzují, že HANPs nepůsobí cytotoxicky a dokladují rozdíly v indukované buněčné odpovědi po aplikaci HANPs. Výsledky jsou podpořeny kvalitními fotografiemi z fluorescenčního mikroskopu. V diskuzi diplomantka shrnuje výsledky své práce, porovnává je s recentními publikacemi a formuluje vlastní závěry.

Téma diplomové práce je velmi aktuální a diplomantka prokázala, že je schopna samostatné vědecké práce. Všechny cíle diplomové práce byly splněny.

**Otázky:**

1. Autorka uvádí, že po ozáření buněk dávkou 15 Gy bylo možné sledovat změny související s ozařováním, například nekrotické buňky či apoptické buňky s fragmentací jádra. Jaké experimentální metody autorka použila pro prokázání těchto výsledků?
2. Autorka v experimentální části práce používá pro různé experimenty různě velké nanočástice např. pro stanovení viability nanočástice o velikosti 115,8 nm a pro průkaz exprese CD44 a FL-HANPs po ozáření pomocí fluorescenční mikroskopie nanočástice o velikosti 169,9 nm. Na základě jakých kritérií byly vybrány nanočástice použité v experimentální části diplomové práce?

**Závěr:**

Závěrem konstatuji, že diplomová práce Bc. Diany Fluksové splnila obsahem i rozsahem podmínky kladené na tento typ kvalifikačních prací.

**Vzhledem k výše uvedenému doporučuji práci k obhajobě a hodnotím ji klasifikačním stupněm A (výborně).**

V Hradci Králové dne 14. 8. 2020

---

Mgr. Alžběta Filipová, Ph.D.

Katedra Radiobiologie, Fakulta  
vojenského zdravotnictví v Hradci  
Králové, Univerzita obrany v Brně