



Název diplomové práce:

Příprava částic chitosanu a testování jejich cytotoxicity *in vitro*

Autor: Bc. Simona Fryszová
Vedoucí diplomové práce: RNDr. Karel Královec, Ph.D.
Konzultant diplomové práce: doc. Mgr. Marcela Slováková, Ph.D.

Hlavním cílem diplomové práce Bc. Simony Fryszové byla příprava neznačených a fluorescenčně značených částic chitosanu a následné testování cytotoxického působení neznačených částic. Značené chitosanové částice byly využity pro hodnocení jejich internalizace do buněk. Dílčím cílem diplomové práce bylo charakterizovat syntetizované částice chitosanu prostřednictvím měření zeta-potenciálu, stanovení velikosti částic pomocí dynamického rozptylu světla (DLS) a indexu polydisperzity. V rámci *in vitro* experimentů byly vybrané buněčné linie inkubovány s připravenými chitosanovými částicemi a následně byla sledována aktivita mitochondriálních dehydrogenáz prostřednictvím XTT testu. Jako buněčný model pro studium cytotoxicity byla využita buněčná linie lidského karcinomu plic (A549) a buněčná linie lidského karcinomu ovarií (A2780).

Předložená diplomová práce je členěna dle klasického schématu do čtyř hlavních kapitol. Vedle kapitol „Cíle“, „Teoretická část“ a „Experimentální část“ studentka vytvořila čtvrtou kapitolu, kde propojila získané výsledky s jejich diskusí. Diplomová práce má rozsah 110 stran a informace v ní jsou podloženy 144 citacemi. Práce je vhodně doplněna 25 ilustracemi. Jak rozsah práce, tak množství použitých zdrojů hodnotím jako optimální. Studentka při sepisování práce, zejména její teoretické části, prokázala schopnost vhodně kompilovat teoretické informace z odborných publikací, a i přes některé drobné překlepy dokázala informace zpracovat přehledně. V rámci experimentální části práce studentka dokázala naměřené výsledky interpretovat, avšak prezentace hlavních výsledků v podobě přiložených grafů je zatížena nepřesnostmi a ani z grafického hlediska nevypadá příliš dobře.

K vlastnímu textu a formální stránce diplomové práce mám několik připomínek:

1. V rámci obsahu jsou některé **kapitoly členěny pouze na jednu podkapitolu** (3.4.1 a 3.13.1), což nedává příliš smysl.
2. Střídání anglických a českých názvů v seznamu zkratk bez rozlišení není ideální.
3. **Formátování cílů do podoby souvislého odstavce textu v kombinaci s odrážkami není příliš přehledné.** Zároveň umístění shrnutí hlavních vytyčených cílů diplomové práce již před teoretickou částí není ideální.
4. **Popisky u obrázků 8, 9, 10 a 11 v teoretické části by měly být větší.** Zároveň se v textu objevují drobné nesrovnalosti např.: v náhodném umístění kurzívy (str. 21), překlepy (str. 23, 24,...), různé pomlčky (str. 57), nepřesnosti v psaní dolních indexů (str. 57), což zbytečně snižuje úroveň **pěkně formulovaného textu.**
5. **Kombinace výsledkové a diskusní části nebyla v tomto případě dle mého názoru úplně šťastnou volbou.** Rozsah výsledkové a diskusní části diplomové práce je sice v souhrnu odpovídající, avšak vlastní **výsledky trochu zapadají.**

6. **Neúplný popis tabulek a obrázků:** Tab. č. 2 na str. 69 by měla mít v popisku vysvětleno, co znamenají červeně zvýrazněná čísla. Stejný problém je patrný i u obr. č. 15 na str. 80, tam opět chybí interpretace barev jednotlivých buněčných struktur. Všechny tyto chybějící informace jsou k dohledání ve vlastním textu práce. Jejich umístění přímo do popisků obrázků a tabulek by však zjednodušilo orientaci v nich.
7. **Zásadní připomínka se týká zejména podoby grafů.** Chybně je nejen vlastní umístění popisku grafů nad příslušnými grafy, ale dané popisky zároveň obsahují celou řadu nepřesností. Grafy 1–3 na str. 72, 73 a 78 nejsou po obsahové ani grafické stránce zpracovány kvalitně. **V grafech 1 a 2 je popisek na ose x v $\mu\text{g/ml}$ v kombinaci s označením předposledního sloupce $1 \mu\text{M DOX}$ a posledního sloupce H_2O , což nedává smysl.** Zároveň není uvedeno, čeho se příslušná koncentrace týká, toto chybí i v grafu 3. V popiscích grafů chybí řada informací, např.: vysvětlení zkratky DOX; není zřejmé, co představuje sloupec H_2O ; nejsou uvedeny počty provedených opakování.
8. **Seznam literatury není zpracován přehledně.** Citace jsou rozloženy na 20 stran práce a značně splývají. Navíc obsahují celou řadu **formálních nepřesností**. U některých citací chybí zvýraznění čísla časopisu (např.: VASHIST, A.,... ; WANG, H.,...). U některých citací je označen název článku kurzívou (např.: CARRASCO-SANDOVAL, J.,... ; DANA EI, M.,...) nebo chybí kurzíva u názvu časopisu (např.: BOZA, A.,...) a prakticky nikde není vhodně zformátováno DOI článku. Pro zlepšení přehlednosti použité literatury by bylo vhodné minimálně přidat **číslování zdrojů** a odstranit **redundantní spojení** „Dostupné z:“, jež se téměř u každé citace nachází.

Dotazy a náměty do diskuse:

1. V práci na straně 63 zmiňujete, že: „Ideální rozmezí pro pasážování je 70–90% konfluence“. **Vysvětlete, proč právě toto rozmezí a jaká rizika jsou spojena s tím, když pro experimenty použijeme buňky z kultivační nádoby, kde byla konfluence 100% nebo například 30%.**
2. V práci na straně 64 zmiňujete, že buněčná linie A549 byla nasazována v denzitě 5×10^3 buněk/jamku a buněčná linie A2780 v denzitě 40×10^3 . **Na základě čeho byly tyto dvě buněčné linie zvoleny jako modelový buněčný systém? Byla uvedena buněčná denzita nějakým způsobem optimalizována?**
3. V textu práce na straně 77 hovoříte o patrném rostoucím trendu internalizace částic do buněk. To však v práci není nijak statisticky podloženo. Jako potvrzení tohoto tvrzení dokládáte obrázek č. 15, v němž však toto není jednoznačně patrné. **Byla data uvedena v grafu 3 nějakým způsobem statisticky analyzována?**
4. V závěru zmiňujete zvýšení viability buněk přes 110 %. **Čím si toto zvýšení vysvětlujete?**

Závěr a doporučení:

Diplomová práce Bc. Simony Fryszové i přes výše uvedené připomínky splňuje všechny vytyčené cíle a kritéria pro diplomovou práci. Formální náležitosti jsou splněny. Téma diplomové práce je aktuální. Předloženou práci **doporučuji k obhajobě.**

Závěrečné hodnocení diplomové práce: **C**

V Pardubicích 21. 5. 2025

RNDr. Jiří Handl, Ph.D.