

Oponentský posudek na diplomovou práci

Název diplomové práce: *Modulace mitochondriální bioenergetiky nádorových buněk*

Autorka diplomové práce: **Bc. Lucie Bravencová**

Vedoucí diplomové práce: Mgr. Pavla Žáková, Ph.D.

Odborný konzultant: Moustafa Elkalaf, M.B.B.Ch., Ph.D.

Cílem předložené diplomové práce bylo studium vlivu mastných kyselin s krátkým řetězcem na viabilitu a parametry buněčné respirace v podmínkách *in vitro*, jako modelové buňky sloužily nádorové buněčné linie jaterního původu (HepG2) a linie adenokarcinomu lidských plic (A549).

K řešení zadaných cílů byly použity adekvátní moderní metody sloužící k posouzení energetického metabolismu, jedná se především o přístroj pro měření buněčné metabolické aktivity - analyzátor Seahorse SFe 96 (Agilent Technologies, USA). Autorka musela zvládnout také práci s tkáňovými kulturami, pasážování buněk i metody k posouzení viability buněk. Téma diplomové práce je aktuální vzhledem k možné roli testovaných látek v prevenci karcinogeneze.

Práce má 78 stran včetně 13 obrázků, 2 tabulek, 15 grafů a seznamu literatury (88 citací včetně recentních). Práce je klasicky členěna, v teoretické části podává autorka na 44 stranách základní informace o mitochondriích a dějích, které v nich probíhají, popisuje elektronový transportní řetězec a oxidační fosforylaci. Dále věnuje pozornost hlavním změnám mitochondriálního metabolismu u maligně transformovaných buněk. S ohledem na zaměření práce věnuje poslední část literárního úvodu mastným kyselinám s krátkým řetězcem s ohledem nejen na jejich strukturu a metabolismus, ale také jejich potenciální antikarcinogenní působení. Cíle práce jsou jasně definovány, metodická část je dostatečně přehledně zpracována (závažné připomínky uvedu níže). Výsledky jsou přiměřeně dokumentovány a jasně popsány. Diskuse k získaným výsledkům je adekvátní, nicméně podrobnější srovnání vlastních výsledků s literárními údaji namísto opakování výsledků by kvalitě diskuse prospělo. Diplomová práce je psána srozumitelně a jak po odborné, tak i po formální stránce odpovídá požadavkům kladeným na diplomové práce.

K práci mám následující připomínky a dotazy:

1. Připomínky závažnějšího charakteru:

- a) v práci postrádám údaje o statistickém hodnocení získaných dat. Je uvedena pouze jedna zcela nedostačující věta na str. 66: „*Statistické vyhodnocení výsledků bylo provedeno pomocí testu jednosměrná ANOVA*“.
- b) v grafech není nikde uvedena statistická významnost, ačkoli v textu k výsledkům se velmi často opakuje tvrzení, že se jedná o statisticky významné změny. K dispozici nejsou ani číselné údaje, týkající se výsledků a počtu měření. Čtenář tedy nemůže významnost výsledků nijak ověřit. Postrádám rovněž vysvětlení zkratky SD – předpokládám, že se jedná o směrodatnou odchylku, ale musí to být v textu zmíněno.
- c) V textu jsem také nikde nenašla zdroj (dodavatele) buněčných linií HepG2 a A549.

2. Připomínky formálního charakteru:

- a) autorka nesprávně používá českou biochemickou terminologii – již ve zkratkách a dále v textu používá např. guanosin trifosfát místo guanosintrifosfát, flavin adenin dinukleotid namísto flavinadenindinukleotid, nikotinamid adenin dinukleotid místo nikotinamidadenindinukleotid a další.
- b) seznam zkratek – ubichinol je v seznamu označen jako OH₂ namísto QH₂, jak je uváděn dále v textu
- c) v textu je řada chybných termínů např. *oligomycin sensitivity-coferring protein* správně oligomycin sensitivity-conferring protein, *kyselina suberoylanilid hydroxamová* správně kyselina suberoylanilid hydroxamová (vyskytují se ve zkratkách i v samotném textu)
- d) některé věty nedávají smysl – př. str. 37 „*Buňky mohou pocházet přímo z přímo a disagregovány enzymatickými*“
- e) str. 48., *...rozpipetováno do 50 ml označených sterilních tub ...* - jedná se o zkumavky (Falcon), tuba má v češtině jiný význam

3. Dotazy:

- a) V závěru je uvedena věta „*K těmto účelům jsme využili metodu WST-1assay ke stanovení viability buněk HepG2 po expozici SCFA a také metodu Cell Mito Stress Test, kde jsme pomocí analyzátoru Agilent Seahorse XFe 96*“. Druhá polovina věty nedává smysl, navíc nikde v předchozím textu autorka Cell Mito Stress Test nezmiňuje, pro čtenáře, který nemá zkušenost s měřením na tomto přístroji, je výše uvedená informace málo srozumitelná. Prosím o vysvětlení.

Přes výše uvedené připomínky konstatuji, že se jedná o kvalitní diplomovou práci, která přináší nové poznatky a otevírá nové otázky, na které bude nutné hledat odpověď. Práci doporučuji k obhajobě.

Závěrečné hodnocení: D (velmi dobře minus)

V Hradci Králové 30. května 2022

Prof. MUDr. Zuzana Červinková, CSc.

lékařská fakulta UK v Hradci Králové