



Prof. RNDr. Dalibor Kodrík, CSc.  
Biologické centrum v.v.i, AV ČR  
Entomologický ústav  
Branišovská 31  
370 05 České Budějovice  
Telefon: přímá linka 387 775 271, ústředna 387 771 111  
Fax: 385 310 354, E-mail: [kodrik@entu.cas.cz](mailto:kodrik@entu.cas.cz)

### Posudek na magisterskou práci Kláry Szakosové - **Vliv oxidativního stresu na telomerickou délku u *Drosophila melanogaster***

Předkládaná práce studuje úlohu telomer u mušky octomilky během oxidačního stresu vyvolaného nízkými dávkami paraquat. Práce má klasické členění. V Úvodu autorka shrnuje základní poznatky o oxidačním stresu a popisuje faktory, které ho vyvolávají. Vysvětluje také strukturu a funkci telomer. Cíle práce jsou jasně a stručně charakterizovány. Kapitoly Materiál a Metodika ukazují, že autorka zvládla řadu různých technik a postupů. Následuje kapitola Výsledky s prezentací získaných výsledků a dat, které jsou dokumentovány řadou grafů. V Diskuzi pak autorka vysvětluje naměřené výsledky a srovnává je s literárními údaji. Celá práce je napsána na velmi vysoké odborné úrovni s minimem chyb.

#### K práci mám následující dotazy a poznámky:

- str. 1: uvádí se zde, že myšlenku buněčné nerovnováhy při oxidačním stresu (OS) poprvé formuloval Sies (1997). Je to pravda? Mám za to, že práce o této problematice se objevují mnohem dříve např. Fridovich (1978, Science, 201, 875-79).
- str. 1: nepřesná formulace – glycidy nepatří mezi makromolekuly.
- str. 3+4: Ze zde uvedeného dlouhého souvětí plyne, že stárnutí je patologický stav; naštěstí nebo naneštěstí je to stav fyziologický.
- str. 10: jsou zde uvedeny koncentrace paraquat použité na testování oxidačního stresu a na mortalitu. Mezi oběma skupinami jsou velké koncentrační rozdíly. Proč tomu tak je?
- str. 13: ANOVA je zkratka a neskloňuje se.
- str. 14: první odstavec Výsledků je převážně opakování metodiky a lze ho snadno pominout
- Obr. 1-3: Obrázky shrnují velké množství dat, nebylo teda asi jednoduché je přehledně prezentovat, nicméně na popis většiny z nich je použito tak malé písmo, že je to na hranici čitelnosti (alespoň pro lidi mého věku). U obhajoby prosím také o vysvětlení statistických testů, ne vždy je to jasné.
- Obr. 1: chybí popis A,B,C. Na st. 15 se píše, že Obr. 1C ukazuje navýšení kopií elementu TART mezi generacemi. Je to tam opravdu vidět?
- str. 17: Co plyne z toho, že paraquat stimuluje transkripci netelomerických elementů? Prosím o komentář.
- str. 19+20, Obr. 3: Není mi zcela zřejmé uspořádání pokusů pro zde prezentované výsledky, u obhajoby prosím o jejich jasný popis. Dále, jsou na ose  $y$  v Obr. 3C popsány jako „Letální koncentrace paraquat“ uvedeny hodnoty  $LC_{50}$ ? V příslušném textu popisující Obr. 3 se používá zkratka LD, mělo by se ale používat LC (jedná se o koncentrace paraquat). Dále prosím o komentář výsledku, kdy mortalita octomilek při podání vysoké dávky paraquat byla u jedinců dříve exponovaných jeho nízkým dávkám snížena.
- str. 22: Překvapuje mě tvrzení, že nebyl dosud prokázán účinek volných radikálů na zkracování délky telomer. Takový pokus by asi nebylo těžké připravit.
- Diskuze: Docela podrobně se zde diskutuje termín – hormeze. Myslíte, si že by mohl zahrnovat i jev známý u řady hormonů, kdy účinné jsou pouze optimální dávky, a vysoké a

nízké dávka jsou méně účinné a nebo neúčinné?

Závěr:

Autorka zpracovala zajímavou problematiku, zvládla řadu molekulárně-biologických metod a shromáždila velký soubor kvalitních dat. Napsala velmi pěknou diplomovou práci; několik výše zmíněných formálních nesrovnalostí, které se dají najít v každé práci (a nejenom diplomové), hodnotu získaných informací nikterak nesnižují. Práci jednoznačně doporučuji k obhajobě jako jeden z podkladů k získání magisterského titulu a hodnotím ji známkou „výborně“.

Č. Budějovice, 15. 5. 2015



Dalibor Kodrík - oponent



## Oponentský posudek diplomové práce Bc. Kláry Szakosové

Ve své diplomové práci se autorka zaměřila na řešení otázky souvislosti mezi oxidativním stresem a délkou telomer u drozofily, kde jsou telomery tvořeny sadou tří retrotranspozonů. Zjistila, že v důsledku indukce oxidativního stresu parakvatem dochází k mírnému nárůstu délky telomer i hladin transkriptů příslušných retrotranspozonů. Nárůst transkripční aktivity se týkal i netelomerických elementů. Chronická indukce nízkými dávkami parakvatu pak u příslušných jedinců (s prodlouženými telomery a zvýšenou hladinou jejich transkripce) vede k vyšší odolnosti vůči letálním dávkám, tedy k tzv. efektu hormeze.

Práce představuje originální příspěvek k problematice oxidativního poškození telomer a její výsledky jsou podle mého názoru publikovatelné v mezinárodním vědeckém časopise. Vysoce oceňuji jasnou formulaci řešené otázky. Za nejzdařilejší části diplomové práce považuji Výsledky a Diskusi, v nichž autorka prokázala schopnost samostatně a kvalifikovaně zpracovat a kriticky interpretovat experimentální výsledky s ohledem na možná alternativní vysvětlení. V tomto ohledu se dopustila poněkud ukvapeného závěru až v Závěru, kde uvádí „...má studie naznačuje, že je to pravděpodobně mimo jiné i délka telomer, která je díky optimálně zvolené koncentraci parakvatu prodlužována, a že **délka telomer jako taková ovlivňuje odolnost k oxidativnímu stresu.**“ Podle mého názoru to, co je výsledkem experimentů, je přesvědčivý průkaz **korelace** obou faktorů, nikoli jejich uvedené přímé příčinné souvislosti (viz např. zjištění o obecné aktivaci transkripce telomerických i netelomerických retrotranspozonů – zvýšená odolnost může mít tedy příčinu i jinde).

Přes nesporné kvality diplomové práce musím zmínit i řadu drobných nedostatků především v úvodní části práce. Zpravidla jde o drobné jazykové prohřešky, nepřesnosti, překlepy nebo stylistické chyby:

str. 1 „porozumění definice..“ správně „porozumění definicí“

str. 2: „Do první skupiny řadíme superoxidový ( $O_2^{\bullet-}$ ), hydroxylový ( $HO^{\bullet}$ ), **hydroperoxylový** ( $HO_2^{\bullet}$ ), peroxylový ( $ROO^{\bullet}$ ) a alkoxylový ( $RO^{\bullet}$ ) radikál. Mezi neradikálové formy kyslíku patří peroxid vodíku ( $H_2O_2$ ), ozón ( $O_3$ ), singletový kyslík ( $^1O_2$ ) **hydroxoperoxyl** ( $HO_2^{\bullet}$ ) a kyselina chlorná ( $HOCl$ ) (Valko et al., 2007).“ Je nějaký rozdíl mezi hydroperoxylem a hydroxoperoxylem ? (Kromě toho, že druhá varianta je podle mého názoru správnější?) Patří do obou skupin?

str.2: „Další příkladem významu“

str 2-3: „Mitochondriální lipidy se snadno rozkládají a dochází k peroxidaci buněčné membrány a následnému uvolnění ROS, což vede k ještě většímu ničení DNA (Finkel & Holbrook, 2000).“ autorka má zřejmě na mysli mitochondriální membránu (?).

str. 3: „...a v neposlední řadě ionizační či UV záření“ Správný termín je ionizující záření.



str. 4: „Pokud je telomera zkrácena na minimální, kritickou délku označovanou jako tzv. Hayflickův limit, ztrácí buňka schopnost dělení (Hayflick & Moorhead, 1961).“ Toto je nepřesné a zkratkovité vyjádření. Hayflickův limit je limit počtu dělení buněk, a podle telomerové teorie stárnutí souvisí se zkracováním telomer. V r. 1961 v odkazované práci se však o telomerech nepojednávalo; oba jevy dal poprvé do souvislosti až Alexej Olovnikov v r. 1971 (v časopise Doklady Akademii Nauk SSSR).

str. 7: „Nejaktivnější je zejména v zárodečných buňkách, ale najdeme ji i v buňkách somatických (Sharma et al., 1995; Thomson et al., 1998).“ – Jakého organismu? V odstavci se mluví o prvku *T. thermophila*...

str. 8: „Zatímco vysoká dávka může mít inhibující či toxický účinek nebo naopak nízká může u organismu vyvolat stimulační až benefiční účinky.“

str. 10: „...bylo použito několika nízkých koncentrací parakvatu:  $16 \times 10^{-8}$  mM,  $16 \times 10^{-7}$  mM,  $16 \times 10^{-6}$  mM,  $16 \times 10^{-5}$  mM,  $16 \times 10^{-4}$  mM a  $16 \times 10^{-3}$  mM.“ Je zbytečně komplikované používat kombinace exponentů a mM. Bylo by přehlednější použít buďto jen exponenty ve spojení s molární koncentrací (M), nebo příslušné zkratky -  $\mu$ M, nM a pM – bez exponentů.

str. 11: „...a na závěr se stejným dílem chloroform-isoamylalkoholu.“ není uveden poměr obou látek.

Popisky uvnitř obrázků 1- 3 jsou pro svou miniaturní velikost nečitelné.

Přes uvedené drobné a většinou jen formální nedostatky považuji diplomovou práci za neobyčejně zdařilou a velmi přínosnou pro tuto oblast výzkumu, a proto ji doporučuji k obhajobě s výborným hodnocením.

V Brně dne 17. 5. 2015



Prof. RNDr. Jiří Fajkus, CSc.