

Posudek na disertační práci Ing. Barbory Neužilové

ČESKÉ VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V PRAZE
FAKULTA JADERNÁ A FYZIKÁLNĚ INŽENÝRSKÁ

Chemická ochrana živých buněk před účinky singletového kyslíku

Autorka doktorské disertační práce se zaměřila na studium reakcí chránících mikrobiální buňky při jejich inetrakci s volnými radikály. Jedná se především o radikály typu OH vznikající při ozařování vody gama zářením. Byl sledován efekt scavengerů OH radikálů na vychytávání singletového kyslíku vznikajícího při reakci UV záření s fotosenzibilizátorem. Produkce singletového kyslíku byla sledována pomocí komerční chemické sondy singletového kyslíku Singlet Oxygen Sensor Green, kdy při reakci sondy se singletovým kyslíkem vzniká fluorescenční endoperoxid. Obsahem práce je studium vlivu vyrobených nanokompozitních materiálů na živé buňky v přítomnosti rentgenového záření i možnosti jejich použití pro léčbu metodou PDTX (rentgenem buzená fotodynamická terapie). Cílem bylo studium toxicity vybraných nanokompozitních materiálů. Sledoval se vliv na přežití bakterií *Escherichia coli* a kvasinek *Saccharomyces cerevisiae*.

Po přečtení celé práce mám pocit, že celá řada efektů a konstrukcí popisujících jednotlivá experimentální data byla vyhodnocena poměrně nedbale, bez hlubších studií dostupných literárních pramenů a jejich použití v diskuzi a závěrech této práce. Zcela mi chybí základní fotochemický popis stojící na pevných základech Jablonského diagramu, který je součástí všech učebnic fotochemie.

Disertace je menšího rozsahu, výsledky a diskuse jsou pouze na 15 stranách (včetně 11 obrázků a 2 tabulek).

Publikační činnost autorky je na <https://orcid.org/0000-0003-0273-6671>.

Je uvedeno celkem 9 publikací; publikace týkající se reakcí singletního kyslíku s ethanolem (zhášení ethanolem), publikovaná v *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, 2023, DOI: [10.1007/s10967-023-08765-z](https://doi.org/10.1007/s10967-023-08765-z). je v rozporu s dosud publikovanými daty, viz moje připomínka 2. uvedená níže.

V krátkosti zmiňuji základní body, ke kterým vznáším své nejkritičtější připomínky:

1. Literární údaje (např. [1] a další) ukazují, že použití "Singlet Oxygen Sensor Green (SOSG)" pro kvantitativní stanovení singletového kyslíku v systémech uvedených v disertační práci (reakce fotosenzitované Bengálskou červení a ozařované UV světlem) je problematické a může vést k chybným výsledkům nejméně ze dvou důvodů: (1) fluorescenční endoperoxid vznikající reakcí singletového kyslíku a SOSG sám produkuje při ozařování singletní kyslík, (2) ozařování SOSG ultrafialovým světlem vede k jeho rychlé fotodegradaci. Tyto skutečnosti by měly být primárně zvažovány při interpretaci výsledků. Navíc je třeba zvažovat různé doby života singletního kyslíku při přidavku alkoholu (viz bod 2), který by se měl projevit ve změně/zvýšení stacionární koncentrace kyslíku při kontinuálním ozařování. Využití SOSG pro monitorování singletního kyslíku je především v biologických systémech s velmi nízkou koncentrací singletního kyslíku, kde klasické metody (např. měření NIR luminescence) selhávají a kde nedochází k přímé excitaci SOSG.
2. Mechanismus zhášení singletového kyslíku ethanolem (a jinými alkoholy) navržený autorkou by měl být podrobněji diskutován, protože je v rozporu s dosud publikovanými daty měřeními metodami časově rozlišené luminescence [2]. Doba života singletového kyslíku ve vodě je cca 3.5 μ s a v ethanolu 14 μ s, což spíše ukazuje opačný efekt, tj. singletový kyslík je nejvíce zhášen ve vodě bez přítomnosti alkoholů. Navíc rozpustnost kyslíku v ethanolu je několikanásobně vyšší než ve vodě, takže fotosenzitovanou reakcí by mělo vznikat více singletového kyslíku. Hydroxylový radikál, který autorka zkoumala dříve, ale není součástí této práce, je mnohem více reaktivní a proto se chová jinak, tj. může se zhášet alkoholy (methanolem).

Reference k připomínkám:

1. Gollmer, A., Arnbjerg, J., Blaikie, F.H., Pedersen, B.W., Breitenbach, T., Daasbjerg, K., Glasius, M. and Ogilby, P.R.: Singlet Oxygen Sensor Green[®]: Photochemical Behavior in Solution and in a Mammalian Cell. *Photochemistry and Photobiology*, 87: 671-679 (2011). <https://doi.org/10.1111/j.1751-1097.2011.00900.x>
2. Wilkinson F., Helman W.P., Ross A.B. ; Rate Constants for the Decay and Reactions of the Lowest Electronically Excited Singlet State of Molecular Oxygen in Solution. An Expanded and Revised Compilation. *J. Phys. Chem. Ref. Data* 24 (2): 663–677 (1995). <https://doi.org/10.1063/1.555965>.

Zhodnocení:

Vzhledem k tomu, že autorka disertace musela zvládnout relativně širokou problematiku fotochemie na molekulární úrovni, studium singletního kyslíku a jeho detekci, doporučuji práci k obhajobě, podmínku úspěšné obhajoby však stavím na detailním rozboru vznesených připomínek a jejich diskuzi na základě korektního srovnání výsledků s dostupnou současnou literaturou v dané problematice.

V Praze dne 7.6.2025

Prof. RNDr. Svatopluk Civiš, DSc
Ústav fyzikální chemie J. Heyrovského v.v.i.
Akademie věd České republiky
e-mail: Svatopluk.civis@jh-inst.cas.cz