



Univerzita Karlova v Praze
Lékařská fakulta v Hradci Králové

OPONENTSKÝ POSUDEK NA DIPLOMOVOU PRÁCI

Název diplomové práce: Působení potenciálních léčiv na expresi genů v jaterních myofibroblastech

Práci zpracoval: Bc. Jan Šafka

Univerzita Pardubice, Fakulta chemicko-technologická

Akademický rok 2010/2011

Studijní program: N3912 Speciální chemicko-biologické obory

Studijní obor: Analýza biologických materiálů

Vedoucí práce: doc. RNDr. Zuzana Bílková, PhD.

Konzultant práce: Mgr. Alena Jiroutová

Oponent: doc. MUDr. Martina Řezáčová, PhD.

Doporučení k obhajobě: Doporučuji

Posudek:

Předkládaná diplomová práce má experimentální charakter. Autor zkoumá vliv látky WY-14643 – agonisty nukleárních receptorů v kombinaci s trojrozměrným kultivačním prostředím na expresi genů v jaterních myofibroblastech u potkanů. Práce na 58 stranách je členěna do pěti kapitol, obsahuje 12 obrázků, 5 grafů a 6 tabulek. Text je věcně správný, byť se nevyhnul (pochopitelným) začátečnickým neobratnostem; obsahuje minimum překlepů v míře v tomto typu prací běžné.

Teoretická část je napsána přehledně na 18 stranách. Obsahově odpovídá zadané problematice. Autor zde shrnuje poznatky o jaterních buňkách, které mají schopnost syntetizovat vazivo - jaterních hvězdicových buňkách a jaterních myofibroblastech. Další část pojednává o PPAR receptorech, jejich úloze nejen při jaterní fibróze a o látkách schopných aktivovat tyto signální dráhy. Literární úvod je doplněn šesti převzatými schématy. Z literárního úvodu vyplynuly hlavní cíle práce, rozšířit poznání molekulárních mechanismů jaterní fibrózy a přispět k efektivní strategii v proti-fibrotické terapii.

Metodicky je tato práce zaměřena na sledování exprese genů pomocí kvantitativní PCR. Autor sleduje expresi genů v primokultuře kultuře potkaních jaterních myofibroblastů po působení látky WY-14643. Zvolený experimentální model klade vysoké nároky na experimentátora, avšak umožní studium bližší funkce in vivo než stabilní komerční buněčné linie. Běžná metoda kultivace na polystyrenových miskách byla porovnávána s kultivací v kolagenním gelu při různých koncentracích daného agonisty. Použité metody jsou popsány velmi podrobně na 12 stranách textu. Výsledky jsou prezentovány ve formě tabulek a grafů. Vhodně je zde doložena i fotodokumentace buněk kultivovaných v běžných podmínkách i v kolagenním gelu. Výsledková část popisuje změny morfologie, životaschopnosti a zejména změny exprese 5 genů v závislosti na kultivačním prostředí a expozici WY-14643, konkrétně genů pro osteopontin, PPAR-alfa, TGF-beta, matrix metaloproteinasy 2 a 9. Na výsledkovou část navazuje třístránková diskuse, shrnující získané výsledky v kontextu soudobého poznání.

Z předložené diplomové práce je zřejmé využití celé škály špičkových metodických přístupů, jsou velmi dobře popsány metody práce in vitro s buněčnými primokulturami i kvantitativní RT-PCR a je zřejmé dobré pochopení těchto náročných metod. Literatura obsahuje 54



Univerzita Karlova v Praze
Lékařská fakulta v Hradci Králové

citací, kde autor dodržel citační normy. O aktuálnosti daného tématu svědčí skutečnost, že dvě třetiny citací jsou z posledních sedmi let.

K práci mám několik drobných připomínek:

- Zkratka HBSS (s. 30) není vysvětlena ani v textu, ani v seznamu zkratk.
- Neobratná formulace popisu DBD u nukleární receptorů vyvolává dojem, že zinkové prsty („zinc fingers“) se nachází výlučně na těchto receptorech, což není pravda (s. 20)
- V metodické části postrádám údaj, jak byly barveny preparáty na obr. 11 a 12 na s. 44.

Závěr:

Práce byla naplánována, provedena a sepsána vědecky odpovídajícím způsobem a přinesla nové vědecké poznatky týkající se molekulárních mechanismů jaterní fibrogenese. Byly použity moderní metodiky v souladu se současnými světovými trendy. Předložená práce

v y h o v u j e

všem předpisům stanoveným pro diplomové práce. Proto ji navrhuji **přijmout** a vzhledem ke kvalitě předkládané práce ji hodnotím známkou

v e l m i d o b ř e .

K autorovi mám pak následující dotazy:

- 1) Je látka WY-14643 selektivním agonistou pouze isoformy alfa PPAR? Jaká je koncentrace postačující pro aktivaci těchto receptorů u potkana ve srovnání s člověkem?
- 2) Mohl byste vysvětlit popsat strukturu a úlohu zinkových prstů ve struktuře proteinů?

.....
doc. MUDr. Martina Řezáčová, PhD.

Univerzita Karlova v Praze
Lékařská fakulta v Hradci Králové
Ústav lékařské biochemie

- 48 -

v Hradci Králové dne 16.5.2011