



OPONENTSKÝ POSUDEK NA DIPLOMOVOU PRÁCI

Název diplomové práce: Exprese genů v jaterních myofibroblastech kultivovaných v trojrozměrných gelech.

Práci zpracoval: Bc. Lucie Podmolíková
Univerzita Pardubice, Fakulta chemicko-technologická
Akademický rok 2011/2012
Studijní program: N3912 Speciální chemicko-biologické obory
Studijní obor: Analýza biologických materiálů

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

Konzultant práce: doc. RNDr. Jiří Kanta, Csc.

Oponent: Mgr. Alena Jiroutová, PhD.

Doporučení k obhajobě: Doporučuji

Posudek:

Předkládaná diplomová práce má experimentální charakter. Zabývá se studiem účinků pirixinové kyseliny na buněčnou kulturu jaterních myofibroblastů. Autorka ve své práci navazuje na předchozí diplomové práce Petry Čevelové (2009) a Jana Šafky (2011). Doplnjuje jejich výsledky a rozšiřuje je jak metodicky – zavádí western blotting, tak i koncepčně – sleduje vliv pirixinové kyseliny v trojrozměrném kultivačním prostředí. Zaměřuje se na sledování exprese pěti vybraných genů, které se uplatňují při fibrotizaci jaterní tkáně, a to osteopontinu, želatinas, transformačního růstového faktoru a receptoru pro PPAR alfa.

Práce je napsána na 58 stranách, členěna je do pěti kapitol. Teoretická část se na 15 stranách zabývá popisem buněčné i mimobuněčné struktury jaterní tkáně a také seznamuje poznatky o účincích pirixinové kyseliny. Doplněna je sedmi obrázky a dvěma tabulkami. Obsahově odpovídá zadané problematice, množství citované literatury i její recentnost je adekvátní.

Metodicky je tato práce zaměřena na sledování exprese genů pomocí kvantitativní PCR a sledování exprese proteinů pomocí western blotu. Popis metod izolace a kultivace myofibroblastů i jejich dalšího zpracování je podrobný a přehledný a svědčí o autorčiných praktických dovednostech. Zvolené metody odpovídají vytyčenému cíli diplomové práce.



Univerzita Karlova v Praze Lékařská fakulta v Hradci Králové

Experimentální část popisuje změny exprese zmíněných genů i na úrovni proteinů v závislosti na kultivačním prostředí a expozici pirixinovou kyselinou. Výsledky jsou prezentovány srozumitelně a přehledně ve formě grafů a obrázků. Jejich popis je adekvátní. K této části mám jedinou připomínku - výsledky western blotu bych doplnila o kontrolu nanášky.

Na experimentální část navazuje čtyřstránková diskuse, ve které autorka shrnuje dosažené výsledky a hodnotí je v kontextu soudobého poznání. Byť je kyselina pirixinová pro své hypolipidemické účinky známá více než tři desetiletí, o jejich účincích na jaterní tkáň se dosud ví jen málo. Oceňuji, že zvolené téma je současné a zajímavé, navíc se jedná o technicky velmi náročný experiment. Autorka dle mého názoru splnila cíle diplomové práce.

Formální připomínky:

Text obsahuje minimum překlepů (např. str. 19 „ad libitum“ nikoli „ad libidum“) a je napsán přehledně. K formální stránce předkládané diplomové práce nemám připomínky.

K autorce mám následující dotazy:

1. Vysvětlíte, jakou mají sledované želatinasy – MMP-2, MMP-9 úlohu při vzniku případně regresi jaterní fibrózy.
2. Ke sledování proteolytické aktivity metaloproteinás v biologickém materiálu se využívá zymografie. Vysvětlíte její princip.

Hodnocení: Práci doporučuji k přijetí a hodnotím ji známkou výborně.

Mgr. Alena Jiroutová, PhD.

Ústav lékařské biochemie, LFHK

v Hradci Králové dne 15. 5. 2012