

## Oponentský posudek diplomové práce Bc. Davida Housera

Oponovaná diplomová práce:

### Vliv extracelulární matrix na expresi genů v jaterních myofibroblastických buňkách

Autor práce:

Bc. David Houser, Univerzita Pardubice, Fakulta chemicko-technologická,  
Katedra biologických a biochemických věd

Oponent: Mgr. Renata Köhlerová, PhD.

zaměstnavatel: LFHK-UK

Oponovanou diplomovou práci Bc. Davida Housera jsem obdržela 21. 11. 2012. Na první pohled je práce přepracovaná, formátování bylo sjednoceno, názvy podkapitol byly umístěny na začátky stránek, text byl rozdělen do odstavců a velké množství překlepů bylo odstraněno. Bohužel ne všechny. Také zůstává nejednotný pravopis, např. kolagenasa – proteáza (str. 30), SMAD – Smad (str. 30), ethanol – etanol (str. 54).

Seznam použitých zkratk není úplný, u některých zkratk chybí české překlady a některé jsou trochu zavádějící (Insulin-like Growth Factor – inzulin jako růstový faktor).

Text teoretické části je stále neuspořádaný. Některá tvrzení se **stále** vícekrát opakují (viz str. 17, 28 a 29, 34), jiná jsou **stále** stejně nepřesná (str. 14 „Zároveň s jaterním poškozením dostanou játra podnět k regeneraci. To vede k dalšímu narušení jaterní architektury ...“). Opsaný text o játrech vymizel, výrazně se zlepšil i překlad citací anglicky psaných článků, „disulfidické dluhopisy“ byly nahrazeny disulfidickými vazbami a většinou byla upravena i česká gramatika. I přes uvedených 88 citovaných prací je v textu mnoho tvrzení bez uvedeného pramene. Bohužel již dříve kritizované uvádění údajů, které nejsou náplní práce (diplomové či dizertační), pod jejich citacemi (např. autorů Peterové str. 27, 28, 29, 43, Šafky str. 26, Hasmana str. 39) **nebylo opraveno**. Část o matrix metaloproteinase 13 byla rozšířena, ale je to spíše poskládání jednotlivých citací než souvislý text. Jediným kladem teoretické práce jsou pěkné názorné obrázky. I když některé (obr. 2.1. jsou zařazeny bez jakékoliv souvislosti s textem.

Metodická část byla přepsána, u obrázků 3.3 až 3.5 chybí zdroj.

**K výsledkové části jsem měla několik zásadních připomínek:**

- 1) V tabulkách 4.1 a 4.2 nebyly shodné údaje základních dat.**
- 2) Tabulka 4.3 obsahovala přepočítaná základní data z tabulky 4.2, ale nebyl použitý správný a jednotný vzorec.**
- 3) U tabulek 4.5. a 4.6 se lišily počty měření u hodnot FGF-1 10 ng/ml.**

A několik drobností: Fotografiím ve výsledcích chybí úplný zdroj. V grafu 4.1. chybí hodnoty koncentrace heparinu.

Rozšíření diskuse na 2,5 stránky ji příliš nevylepšilo. Nesrozumitelná věta „ ... jsme se zaměřili na sledování genové exprese po ovlivnění buněk pouze heparinem, čímž jsem také navázali na práci Evy Peterové, která tento experiment neprováděla.“ v diskusi zůstala. A přibyla další perla: „Z výsledků vyplývá, že i samotný heparin zvyšuje expresi daných genů, avšak ne tak výrazně jako v kombinaci s heparinem“(str. 75).

V závěru jsem se OPĚT nedozvěděla, zda se exprese genů na plastiku a v kolagenu liší.

Seznam literatury byl opraven, byť stále není formálně jednotný a některé údaje (např. datum vydání) někde chybějí.

Po formální stránce je už text čitelný, ale nezralý a nedotažený. Teoretické části by prospělo, kdyby se z výčtu existujících faktorů a zbytečných tabulek stal souvislý, logicky na sebe navazující text. V diskusi jsem postrádala větší srovnání naměřených výsledků s údaji v literatuře. Dva jsou opravdu málo a „WOODS et al. 2000“ navíc ani není uveden v seznamu literatury.

#### **Otázky a připomínky recenzenta:**

1. Čím je tvořena fyziologická extracelulární matrix? Jak se od ní liší patologická?
2. Co znamenají zkratky LD, GMT a ALP (str. 20, nejsou vysvětleny)?
3. Jak si vysvětlujete „zvýšení účinku FGF-1 po přidání heparinu do média“, když podle Bučinské str. 35 – 36 „vazba na volný heparin snižuje titr FGF, kterého se pak nedostává k aktivaci FGFR“?
4. Z čeho se získává fibrogenní mRNA pro diagnostiku jaterní fibrózy? A odkud jste získal tuto informaci?
5. Co znamená termín sekvestrace (str. 45)?
6. Jak vypadá inverzní mikroskop?

7. Zabývali jste se tuhostí substrátu?
8. Jak si vysvětlujete, že mezi koncentrací FGF-1 a naměřenými hodnotami není žádná úměra?
9. Proč jste očekával zvýšenou expresi genů pro MMP-13 a osteopontin po přidání FGF-1?
10. Jakým způsobem spolu souvisí zvýšení exprese genů kolagenas a snížení exprese genu pro kolagen typu I (Becerril 1999)?
11. Pokud po přidání FGF-1 (10 ng/ml) do gelu klesne exprese 3 z 5 sledovaných genů oproti neovlivněné kontrole a následně v kombinaci FGF-1 a heparinu u všech genů stoupne nad úroveň kontroly, je možné mluvit o tom, že heparin zesiluje účinek FGF-1?
12. Je nějaký rozdíl v expresi genů pěstovaných na plastiku a v 3D gelu?

### **Závěr:**

V práci je mnoho faktických i formálních nedostatků. **Pokud bude práce opravena podle mých zásadních připomínek** i v již odevzdaných výtiscích a pokud diplomant uspokojivě odpoví na mé výše uvedené dotazy, navrhuji **přijmout** a hodnotím **dobře**.

V Hradci Králové dne 30. 11. 2012



Mgr. Renata Köhlerová, PhD.

odborná asistentka Ústavu lékařské biochemie  
UK v Praze, Lékařská fakulta v HK