

Oponentský posudek na magisterskou práci

Bc. Paulína Kikinderová (2021) Role of matrix metalloproteinases in regulation of late embryonic healing process.

Magisterská práce Paulíny Kikindrové je zaměřena na studium vlivu metaloproteáz během pozdní fáze hojení ran u pulců drápatky. Práce je psaná v anglickém jazyce, je logicky členěna na kapitoly: Úvod, Literární přehled, Materiál a metody, Výsledky a Diskuse. Po formální stránce práce obsahuje všechny mandatorní části.

Bohužel jazyková úroveň je spíše průměrná a místy i horší. V takovém případě bych spíše doporučoval psát diplomovou práci v mateřském jazyce. Obrazová dokumentace je v pořádku, ale kladl bych důraz na nečitelnost některých převzatých obrázků v literárním přehledu. Dále popisy k obrázkům jsou zarovnané na střed, což působí velmi rušivě a nejen z tohoto důvodu se takové formátování v odborných publikacích nepoužívá.

Práce navazuje na velmi zajímavé výsledky, které byly v laboratoři Dr. Šindelky úspěšně publikovány a diplomová práce by měla navazovat na detailnější porozumění regeneračním mechanismům na modelu pulce. Jedná se o velice aktuální a potřebné téma a zadání je velmi originální. Nicméně se nemohu zbavit pocitu, že téma i experimentální design mohl být uchopen lépe a více vystihnout potřebu studia dané problematiky. Na jednu stranu toto může být chápáno jako zodpovědnost školitele, ale na druhou stranu na úrovni diplomové práce bych již očekával i určitý stupeň autonomie.

Hodnocení částí předkládaného spisu

1 Literární přehled

Literární přehled je zaměřen na problematiku hojení ran, molekulárních mechanismů a popis modelového organismu. Obecně bych literárnímu přehledu vytkl přílišné zaměření na jeden konkrétní modelový organismus. Předpokládám, že projekt by měl mít výstup více motivovaný potenciální klinickou aplikací u lidí. Místy je přehled až zkratkovitý a v rámci přílišných zjedodušení dochází i k chybným interpretacím literárních dat. Například je uvedeno, že molekulární regulace fibroblastů je řízena růstovými faktory PDGF, TGFbeta. Nicméně růstové faktory zahrnuté v diferenciaci fibroblastů jsou výrazně více různorodé, například rodina fibroblastových růstových faktorů není vůbec zmíněna.

Poměrně detailně je rozpracována regulace a funkce matrix metaloproteaz, bohužel v dalších částech práce tato komplexita regulace není příliš brána v potaz.

Jako jeden příklad nesrozumitelného jazyka bych uvedl například:

„Generally, MMPs inhibitors are known as chelating agents which means that they interact with MMPs enzymes by chelation.“ nebo „Even though there is very little known about *mmp1* which encodes enzyme MMP1, it shows activity at tested 60-, 180-, and 360-minutes post injury in case of embryonic wound healing and regeneration.“

Podkapitola postranskripční regulace MMPs je dalším příkladem nepříliš dobře zvládnutého přehledu, kapitola obsahuje jen velmi omezené literární zdroje a nepokrývá problematiku do dostatečného detailu, který je pro funkci MMPs v organismu klíčový.

Závěrem bych ještě k literárnímu přehledu, že převládají literární zdroje spíše postarších dat a zejména reference Alberts 2002, při citování učebnice by mi přišlo vhodné čerpat z co možná nejaktuálnějších vydání.

2 Materiál a metody

Kapitola materiály je detailní a převážně dobře zpracovaná, metody jsou popsány přehledně a srozumitelně. Pouze s výhradou, že kapitola neobsahuje metodiku

zpracování a hodnocení single cell transkriptomiky. Příprava hybridizačních RNA sond není dostatečně popsána, chybí informace o templatu a plasmidu.

Hypotéza a Cíle

Hypotéza v podstatě chybí a trochu ji nahrazují stanovené cíle zasazené do kontextu práce výzkumného týmu.

Jednotlivé cíle jsou definovány detailně, ale chybí propojení a jejich návaznost. Dobře stanovená hypotéza by tento problém jistě vyřešila. V rámci obhajoby práce, bych doporučil hypotézu zpracovat a zahrnout do prezentace.

3 Výsledky

Práce obsahuje velké množství kvalitních výsledků. Jednotlivé kapitoly jsou logicky uspořádané a zejména data získaná pomocí In situ hybridizace a imunofluorescenčního barvení jsou velmi robustní a kvalitně prezentované. Funkční experimenty s inhibicí MMPs jsou také velmi přesvědčivé. Bohužel zejména poslední část výsledků je poměrně zkratkovitá a návaznost na předchozí výsledky a stanovené cíle je nejasná“

7.6. *mmps* regulate each other's activities

7.7. *mmps* as late response genes are regulated by early response genes.

7.8. *mmps* might regulate other late response genes

4 Diskuse

Diskuse je sepsána v podobném stylu jako kapitola literární přehled. Obsahuje dobře komentované výsledky ve spojení s dalšími literárními zdroji, ale celková kvalita a skladba textu je spíš průměrná. Několik vypíchnutí: zcela jistě do diskuse nepatří proklamace "I believe". Ono se dá věřit ledas čemu, ale v diskusi mají být data a jejich kontext se současným poznáním. Druhý vážný komentář bych věnoval upřímnému podivení nad změnou exprese MMPs při jejich inhibici pomocí malých bioaktivních molekul. Pozorovaný fenomén by se dal zcela jistě velmi pěkně diskutovat. A jako poslední komentář k diskusi, velice rád bych četl i nějakou vizi, kam tento výzkum směřuje, jaké jsou další potenciální cíle pro zlepšení lidského zdraví a kvality života obecně.

Doplňující otázky oponenta:

- 1) Na základě čeho se domníváte, že MMPs jsou klíčové pro embryonální hojení ran, tedy ve zkratce pro hojení, které nevede k ukládání fibrózní tkáně? Existuje evidence, že během hojení adultních tkání nejsou MMPs využívány?
- 2) Jakým způsobem byste si představovala, že inhibice jednotlivých MMPs pomocí malých bioaktivních molekul bude měnit transkripční odpověď dalších genů?
- 3) Jakým způsobem si představujete, že MMPs ovlivňují expresi dalších genů?
- 4) Jaké další metody byste navrhla pro analýzu genových interakcí kromě qPCR?
- 5) Proč není qPCR úplně nejvhodnější metoda k popsání activity jednotlivých enzymů?
- 6) Co byste viděla jako klinicky aplikovatelný výsledek vaší práce v bližší či vzdálenější budoucnosti.

Závěrem hodnocení diplomové práce navrhuji 2-.

Ve Vestci 11/05/2021

Jan Prochazka