

Oponentský posudek na diplomovou práci Dity Kašparové

Analyza transkriptů vybraných genů v myokardu potkana adaptovaného na chronickou hypoxii.

Cílem práce bylo zavést metodu izolace a purifikace RNA ze srdeční tkáně, optimalizovat Real Time RT PCR pro 20 vybraných genů a stanovit hladiny mRNA těchto genů v levé komoře potkana v normoxickém a na chronickou hypoxii adaptovaném myokardu. Ve své práci srovnala tři adaptační protokoly chronické hypoxie. Práce obsahuje rozsáhlý literární úvod na 38 stranách, který přináší přehled funkčního významu produktů sledovaných genů. Znamená to, že autorka zvládla velký rozsah základní literatury, mohla se avšak poněkud více zaměřit na práce týkající se přímo chronické hypoxie. Prokázala, že je schopná zvládnout náročnou metodu izolace a purifikace RNA a exprese mRNA pomocí RT PCR. Získala tak rozsáhlý soubor experimentálních dat, která jsou v práci prezentována jako příloha ve 27 grafech a 27 tabulkách. V diskuzi se snažila konfrontovat své výsledky s dostupnými literárními údaji. Zde je třeba zdůraznit, že neměla lehký úkol, protože prací týkajících se exprese sledovaných genů na úrovni mRNA v souvislosti s hypoxií existuje velmi málo, zejména chybí údaje u sledovaných hypoxických stavů. Za nejdůležitější přínos práce považují to, že byly současně sledovány tři různé modely chronické hypoxie, kdy výsledky ukazují zásadní rozdíly, které se v literatuře velmi často neberou v úvahu.

K práci mám několik formálních připomínek a dotazů:

1. V práci se vyskytuje značné množství překlepů, nesprávných formulací a pravopisných chyb.
2. Některé zkratky nejsou vysvětleny v seznamu zkratk (ARNT, VHL, CH, WB)
3. Str. 14, 2. odst. Neckář 2002 – jako model byli používáni samci nikoliv samice
4. Str. 22, odst. 2. Substrátem SOD není O₂ ale superoxidový radikál
5. Ve výsledkové části chybí u všech grafů vysvětlivky zkratk, není vysvětleno proti které hodnotě je vyjádřena signifikace, není jasné jak jsou vyjádřeny odchylky.
6. U všech obrázků nejsou zkratky vysvětleny, u obr. 1 jsou v legendě uvedeny zkratky PHD, VHL, HRE, které se v obrázku vůbec nevyskytují. V obr 3. je špatně označen superoxidový radikál
7. Str. 39, bod 3, str. 40, 2. odst. U CIH byla doba reoxigenace 16. hod., nikoliv 8 hod.
8. Str. 40, schéma adaptačních protokolů je chybně znázorněno, dříve byla hypoxie a pak reoxygenace, ne naopak.

9. Str. 50, 2 odst. „Hladiny mRNA byly vztaženy k housekeeping genu GAPDH...“
nepatří do diskuze , ale do metodiky

Mám tyto otázky:

1. Autorka se v práci zmiňuje o akonitáze v souvislosti s metabolismem železa, mohla by vysvětlit další význam tohoto enzymu v metabolismu?
2. V diskuzi, na str. 52., 6. odst. Upřesněte diskuzi týkající se práce Kolář 2007, konkrétně vliv NAC na poměr GSH/GSSG v hypoxickém myokardu.
3. Blíže vysvětlíte svoje tvrzení v posledním odstavci závěru cituji: „...kdy se již hladina na úrovni proteinu dynamicky nemění...“, v práci nebyla sledována hladina na úrovni proteinů

Závěrem konstatuji, že práce přinesla řadu původních výsledků, kdy autorka prokázala, že je schopná jak po metodické, tak teoretické stránce řešit náročnou problematiku. Práci proto doporučuji obhajobě.

Práci hodnotím známkou velmi dobrou.

V Praze 20. 9. 2010

Doc. RNDr. Olga Nováková, CSc.