

## Posudek oponenta

Oponenta posudek disertační práce **Mgr. Aleny Jiroutové** z Ústavu lékařské chemie a biochemie LF UK V Hradci Králové.

Název práce: **Vliv extracelulární matrix na expresi genů jaterních myofibroblastů**

Školitel: doc. RNDr. Jiří Kanta, CSc.

**Cíle doktorské práce** (jak uvedeno na str. 10):

1. Izolovat hvězdicové buňky a myofibroblasty z normálních a cirhotických jater potkanů. Charakterizovat je podle exprese cytoskeletálních markerů.
2. Popsat změny v expresi genů provázející aktivaci hvězdicových buněk a jejich přeměnu na myofibroblasty. Porovnat expresi genů hvězdicových buněk izolovaných ze zdravých jater a cirhotických jater potkanů.
3. Zjistit, jak myofibroblasty reagují na přítomnost trojrozměrné kolagenní a fibrinové matrix při kultivaci in vitro a popsat, zda a jakým způsobem to ovlivní jejich fenotyp.

### **Struktura (členění) práce**

Doktorská práce má víceméně klasické členění, které odpovídá zřejmě standardní organizaci disertačních prací zadávající instituce. Nejdelší částí představené doktorské práce jsou výsledky a pak teoretický úvod. Popis použitého materiálu a metod je délkou odpovídající. Diskuze má 5 stránek.

### **Úvod do problematiky, vědecký styl a literární přehled:**

Teoretická část práce je sepsána velmi přehledným způsobem a popisuje srozumitelně vesměs všechny oblasti dotýkající se zpracovávané tematiky. Nicméně se v textu nalézají drobné chyby a nepřesnosti. Např.: nestandardní označení názvu genu; matoucí je kombinace českých názvů a anglických zkratk (měl být uveden i anglický název pro přehlednost). U názvů proteolytických enzymů by bylo vhodnější použití názvů použitých ve slovnících a v mnoha českých odborných publikacích: proteinázy místo proteinasy; kaspáza místo kaspasa, kináza místo kinasa; jinak je např. požitá homeostáza. Text je jinak sepsán vědeckým stylem až na několik málo výjimek, kde měla být použita vhodnější formulace (např.: „Pokusím se zde popsat alespoň základní aspekty.....“). Za nevhodný považuji styl citací v celé práci: seznam publikací je číslován, ale v textu jsou uvedena jména bez čísel.

### **Materiál a metody:**

Kapitola o použitých metodách odpovídá obsahu experimentální části. Druh metod je aktuální, ale poněkud omezený. Odpovídá ale druhu vědecké tematiky. Přinejmenším část metod mohla být popsána nebo vysvětlena podrobněji. Např.: není uveden druh diety u chovaných potkanů, nebyl uveden počet použitých potkanů v experimentu, např. popis izolace RNA je velmi krátký, není jasný původ mnoha použitých chemikálií, u použitých protilátek měl být i kód produktu jelikož firmy jako „Santa-Cruz“ nabízejí více podobných protilátek pod stejným jménem, český text je kombinován s anglickým atd.

### **Výsledky a diskuze**

Kapitola je zahájena nestandardním, méně vhodným způsobem. Měl zde být uveden krátce cíl experimentů, místo toho je prezentována technická/metodologická záležitost.

Vlastní práce se týká vesměs popisného přístupu k problematice vytyčené v cílech. Vysvětlení cílů experimentů chybí stejně jako jejich využití. Některé výsledky mohly být dále podpořeny experimentální prací nebo použitím dalších metod; vybrané námitky:

Při vyhodnocování diferencí exprese byly zaznamenány některé rozdíly v produkci proteolytických enzymů; jejich exprese na úrovni RNA nebo proteinu není ale směrodatná. Výsledky by nutně měly

být podpořeny měřením proteolytické aktivity (směrodatná je „netto“ aktivita). Mezi jednoduché metody patří např. zymografie, zvláště, když byly analyzovány MMP-2 a MMP-9. Samotné barvení protilátkou proti MMP-9 nevypadá specificky. Měření úbytku hmoty mělo být také korelováno s proteolytickou aktivitou. Výběr genů pro microarray-analýzu nebyl náležitě objasněn atd. Obrazová dokumentace výsledků je dobrá, ale ve srovnání se standardní vědeckou literaturou velmi strohá.

#### **Formální úroveň práce**

Po formální stránce je práce zpracována dobrým až velmi dobrým způsobem. Překlepy a jiné chyby se téměř nevyskytují (dalším komentáře jsou uvedeny v jiných odstavcích).

#### **Splnění cílů práce a celkové hodnocení:**

Cíle práce byly naplněny zejména ve smyslu metodické cesty vedoucí ke stanoveným cílům. Praktická část mohla být zpracována a vyhodnocena lépe - nebylo využito všech možností. Předložená dizertační práce je však i přes uvedené výhrady zpracována dobře.

#### **Závěrečné zhodnocení**

Disertační práce Mgr. Aleny Jiroutové splnila stanovené cíle a doporučuji její práci k obhajobě vědecké hodnosti Ph.D.

V Praze, dne 12. května 2011

Doc. Radislav Sedláček, Ph.D.  
Ústav molekulární genetiky AV ČR, v.v.i.  
Vídeňská 1083  
142 20 Praha 4