

## Posudek oponenta diplomové práce

Jméno a příjmení uchazeče/ky: Vojtěch Pavluch

Název práce: Studium signalizace a cytoprotektivního potenciálu kanabinoidních GPR55 receptorů v PC12 buňkách

Jméno a příjmení oponenta (včetně titulů): Mgr. Pavel Ostašov, PhD

**A. Bodové hodnocení jednotlivých aspektů práce** (označit křížkem **jednu** z možností - pomocí dojkliknutí levým tlačítkem myši na šedivě podbarvené pole a výběrem hodnoty "zaškrtnuto")

### 1. Rozsah práce a její členění

<b>A</b>	přiměřené, odpovídají charakteru DP a významu jednotlivých částí	<input checked="" type="checkbox"/>
<b>B</b>	nevyrovnané, členění nelogické nebo rozsah některých částí nekoresponduje s jejich významem	<input type="checkbox"/>
<b>C</b>	uspokojivé, rozsah některých částí nedostačující	<input type="checkbox"/>
<b>N</b>	nedostatečné	<input type="checkbox"/>

### 2. Odborná správnost

<b>A</b>	výborná, bez závažnějších připomínek	<input type="checkbox"/>
<b>B</b>	velmi dobrá, s ojedinělými drobnými závadami (např. nejasnost výkladu, chyby v terminologii, nedokonalý popis metod nebo výsledků)	<input type="checkbox"/>
<b>C</b>	uspokojivá, s čtenějšími drobnými závadami	<input type="checkbox"/>
<b>N</b>	nevyhovující, s hrubými chybami	<input checked="" type="checkbox"/>

### 3. Uvedení použitých literárních a jiných zdrojů

<b>A</b>	adekvátní, všechny převzaté údaje s citací zdroje, celkový počet citací odpovídá charakteru práce	<input type="checkbox"/>
<b>B</b>	uspokojivé, s občasnými neobratnostmi (zejm. v umístění odkazů) nebo s celkově nižším počtem citací	<input checked="" type="checkbox"/>
<b>C</b>	s vážnějšími závadami, např. převažují "nestandardní" odkazy na učebnice, webové stránky, nebo se ojediněle vyskytuje opominutí odkazu na zdroj převzatých dat)	<input type="checkbox"/>
<b>N</b>	nevyhovující, velmi málo citací, eventuálně rysy plagiátu (časté opomíjení odkazu na zdroj převzatých dat, popř. opsání velkých částí textu) nebo používání neadekvátních citací	<input type="checkbox"/>

### 4. Jazyk práce

<b>A</b>	výborný, práce napsaná čtivě a srozumitelně, bez závažnějších gramatických nebo pravopisných chyb	<input type="checkbox"/>
<b>B</b>	velmi dobrý, ojedinělé stylistické neobratnosti, gramatické nebo pravopisné chyby	<input type="checkbox"/>
<b>C</b>	uspokojivý, čtenější slohové neobratnosti, gramatické nebo pravopisné chyby, ojediněle se vyskytují obtížně srozumitelné nebo nejednoznačné formulace	<input checked="" type="checkbox"/>

<b>N</b>	nevyhovující, s četnými hrubými chybami	<input type="checkbox"/>
----------	---	--------------------------

### 5. Formální a grafická úroveň práce

<b>A</b>	výborná, bez překlepů a chyb ve formátování	<input type="checkbox"/>
<b>B</b>	velmi dobrá, ojedinělé chyby formátu citací, překlepy, chybějící zkratky, apod.	<input type="checkbox"/>
<b>C</b>	uspokojivá, s ojedinělými většími nedostatky (např. vynechání stránky, uvádění obrázků grafů nebo tabulek bez odkazů v textu) nebo s čtenějšími drobnými chybami	<input type="checkbox"/>
<b>N</b>	nevyhovující, s četnými hrubými chybami	<input checked="" type="checkbox"/>

Případný slovní komentář k bodům 1. až 5.:

Práce má celkem 83 stran a obsahuje 30 obrázků, 19 grafů a 15 tabulek. Celkově je v práci použito 63 citací. Práce je standardně rozdělena do kapitol. Tyto kapitoly někdy začínají na nové stránce (například Úvod, Literární přehled) někdy hned za textem předcházející kapitoly (například cíle diplomové práce). Zkratky nejsou definovány v textu, ale pouze v seznamu zkratek, což činí text poněkud nepřehledným. Tento styl ovšem není dodržován v celém textu, ale v Materiálech a metodách jsou zkratky definovány i v textu (například strana 43 - SDS, APS, TEMED). Literární úvod je celkově méně přehledný. Odkazy na literaturu jsou umístěny poměrně neobratně, často na konci odstavce, který je na jejich základě vytvořen. Vícenásobné odkazy by bylo vhodné uvádět dohromady v jedné závorce (jako v předposledním odstavci na straně 21), nikoliv každý v samostatných závorkách oddělených čárkou (například předposlední odstavec na straně 19). Vzhledem k tomu, že byla použita buněčná linie PC12 která je odvozena od potkana (nikoliv krysy jak je v textu uvedeno), bylo by vhodné uvést na straně 15 uvést i pozici genu pro GPR55 u potkana. V práci se vyskytuje také spojení diabetes mellitus 2, což by správně mělo být diabetes mellitus 2. typu.

Samostatnou kapitolou jsou pak obrázky, grafy a tabulky, na které v textu většinou není odkazováno, nebo je na ně odkazováno nekonzistentně (například opět v metodách na tabulku 2 je odkazováno stylem "bylo napipetováno 250  $\mu$ l ledového lyzačního pufru:" a následuje tabulka, tabulka 3 není odkazována nikde a například tabulka 6 je odkázána přímo v textu.). Tabulka č. 5 "přetéká" jedním řádkem ze strany 42 na stranu 43, což vzhledem k jejímu obsahu je hrubá chyba. Podobně je na tom tabulka 11 na stranách 50 až 51, ale vzhledem k tomu, že u té jde pouze o výčet chemikálií, lze to tolerovat. U grafů velmi často chybí svislá osa. Ačkoliv se jedná o grafy s bezrozměrnými veličinami, bylo by vhodné uvést škálu. U grafu 1 je popisek na jiné stránce než graf. Navíc pořadí jednotlivých agonistů a jejich kombinací je jiné než na grafu 3 bez zjevného důvodu. Fakt, že křížky a hvězdičky vyznačují signifikanci změny vůči kontrole by měla být uvedena v popisku grafu a ne v textu, stejně jako fakt, že se jedná o signifikanci na úrovni  $p < 0,05$ . Tato informace je skryta v metodách na straně 51, spolu s naznačením toho, že chybové úsečky v grafech vyjadřují směrodatnou odchylku. Graf 1 také obsahuje sloupec s kombinací LPI+CID-16020046+CoCl<sub>2</sub>, která se ale nevyskytuje v tabulce 13! Obrázky 1 a 2 jsou pak kresleny ručně a naskenovány. Proti tomu by nešlo nic namítat, pokud by nebyly nakresleny na linkovaném papíře s hlavičkou Mundipharma a byl proveden rozumný ořez. V tomto případě to dle mého názoru ukazuje především na snahu vytvořit je, co nejrychleji. Samozřejmě na ně není v textu odkaz. Podobně je na tom obrázek 18 (opět neodkazovaný v textu), na kterém je dost nepochopitelně viditelný výběr region of interest z programu ImageJ. To podle mého názoru opět spíše ukazuje na snahu dokončit práci především rychle. U obrázků 29 a 30 pak chybí měřítko nebo alespoň informace o použitém zvětšení. Tato informace se navíc nenachází ani nikde v textu.

V textu se vyskytují i rozpory. Na straně 71 je v textu "Míra exprese antiapoptotického proteinu Bcl-xL se výrazněji nemění..." a v odkazu na graf pak "Signifikantní změna vůči kontrolnímu vzorku je vyznačena křížkem." Jak může být změna signifikantní, pokud se exprese nemění?

Ke statistice se váže asi největší problém celé práce. Podle podkapitoly "Statistické zpracování výsledků" byl pro zjištění signifikance pozorovaných změn Studentův t-test. Vzhledem k tomu, že s kontrolou bylo srovnáváno 19 různých kombinací látek je použití tohoto testu samostatně zcela nevhodné a zpochybňuje ukazované výsledky. Bylo by vhodné provést alespoň ANOVA test, který by navíc umožnil i srovnání vlivu jednotlivých látek mezi sebou, které v této práci chybí, ačkoliv naměřená data k tomu vybízejí. Hlavním závažným problémem je, že v celé práci není ani jednou zmíněn počet biologických replikátů, které byly použity pro dosažení daného výsledku. Bez této informace nelze posoudit věrohodnost prezentovaných výsledků.

Ačkoliv z experimentálního hlediska jistě práce nebyla jednoduchá a ukazuje na shromáždění velkého množství potencionálně zajímavých dat, vzhledem k množství větších i menších formálních chyb a stylistických neobratností celkově práce působí, že byla sepsána velmi narychlo. Úroveň práce dále sráží obrázky 1 a 2 a slabá diskuse. Další velkou slabinou práce je statistická analýza a její použití, díky které jde o signifikanci jednotlivých zjištění a celkových závěrů pochybovat.

## **B. Obhajoba - dotazy k obhajobě**

Kolik bylo pro experimenty použito biologických replikátů?

Proč do stanovení peroxidace lipidů na rozdíl od karboxylace proteinů nebyly zařazeny i kombinace agonista+inverzní agonista+CoCl<sub>2</sub>?

Všechny ligandy byly rozpuštěny v DMSO. Bylo DMSO přidáváno i ke kontrolním buňkám?

V signalizaci a metabolismu kannabinoidů hrají úlohu i FAAH (amid hydroláza mastných kyselin) a COX2 (cyklooxygenáza 2). Je známo jestli a jak je jejich aktivita ovlivněna aktivací GPR55 a jeho ligandy, nebo jestli aktivita FAAH a COX2 má vliv na aktivaci GPR55?

## **Stanovisko k opravě chyb v práci**

– opravný lístek/oprava v textu **JE** / ~~**NENÍ**~~ podmínkou přijetí práce (nehodící se škrtněte)

## **C. Celkový návrh**

Práci **doporučuji** k přijetí k dalšímu řízení: ~~**ANO**~~ / **NE** (nehodící se škrtněte)

Navrhovaná celková klasifikace (ve standardní stupnici 1 až 4): **4**

Datum vypracování posudku: 29.8.2016

Podpis oponenta: