

## Posudek oponenta diplomové práce

Jméno a příjmení uchazeče/ky: Bc. Milada Grešíková

Název práce: Úloha Akt kinázy v kardioprotektivních mechanismech chronické hypoxie.

Jméno a příjmení oponenta (včetně titulů): Mgr. Anna Chytilová

**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 checked="" 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 četnějšími drobnými závadami	<input type="checkbox"/>
<b>N</b>	nevyhovující, s hrubými chybami	<input 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 checked="" type="checkbox"/>
<b>B</b>	uspokojivé, s občasnými neobratnostmi (zejm. v umístění odkazů) nebo s celkově nižším počtem citací	<input 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 checked="" type="checkbox"/>
<b>B</b>	velmi dobrý, ojedinělé stylistické neobratnosti, gramatické nebo pravopisné chyby	<input type="checkbox"/>
<b>C</b>	uspokojivý, četnější slohové neobratnosti, gramatické nebo pravopisné chyby, ojediněle se vyskytují obtížně srozumitelné nebo nejednoznačné formulace	<input 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 checked="" 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 type="checkbox"/>

Případný slovní komentář k bodům 1. až 5.:

Předkládaná diplomová práce je velmi dobrá po stránce odborné i formální. Autorce se v ní podařilo stanovit vliv adaptace na chronickou normobarickou hypoxii na expresi a aktivaci Akt kinázy a posoudit vliv ischemie a reperfuze na expresi a aktivaci Akt kinázy a na expresi Bcl-2 a Bax. Rozsah i kvalita výsledků je tedy zcela uspokojivá, práce je navíc sepsána přehledně, logicky a jazykově správně, a to, až na drobné chybičky, jak pravopisně, tak i slohově. Proto práci hodnotím v téměř všech kritériích nejvyšší známkou. Část „formální a grafická úroveň práce“ hodnotím stupněm B z toho důvodu, že metody a výsledky obsahují pár nejasností. Jde hlavně o vysvětlení experimentálních skupin. Nejdříve je v kapitole o adaptaci zvířat na hypoxii uvedeno, že celkový počet zvířat byl rozdělen do 8 skupin, ale není uvedeno do kterých. V následující kapitole o protokolu Ischemicko-reperfuzním jsou pak popsány tři experimentální skupiny, ale není tam úplně zdůrazněno, že každá tato skupina je rozdělena ještě na dvě podle toho, zda byla zvířata chována v normoxii nebo v hypoxii. To je pouze uvedeno u popisku schématu ischemicko-reperfuzního protokolu. Bylo by tedy vhodné uvést počet a význam experimentálních skupin na jednom místě. Další nejasnost je v kapitole o homogenizaci vzorků, kde se uvádí, že zkumavky byly krátce zcentrifugovány. V tomto případě by mělo být přesně uvedeno, o jak krátký úsek se jedná a jakou intenzitou byly vzorky stočeny. V kapitole o popisu experimentálních zvířat je na závěr uvedeno poděkování k financování projektu grantovými agenturám. Toto poděkování by mělo být ve zvláštní kapitole, protože se vztahuje k financování celého projektu a ne jenom k chovu zvířat. I přes tyto drobné nedostatky se však práce jeví jako velmi kvalitní, a navíc otevírá cestu k dalšímu zajímavému výzkumu.

### B. Obhajoba - dotazy k obhajobě

1. V metodách je uvedeno, že pro stanovení velikosti poškození buněk byla stanovena aktivita laktát dehydrogenázy, ale nikde tyto hodnoty nejsou uvedeny. Mohla byste prosím stručně shrnout výsledky z této analýzy?
2. V srdeční tkáni se hlavně uplatňují isoformy 1 a 2 Akt kinázy. V projektu jste stanovovali expresi, které isoformy? Vázala se příslušná protilátka na všechny isoformy?
3. V SDS-PAGE a Western Blottingu bylo nanášeno na analýzu všech proteinů stejné množství vzorku a to 21 µg na jamku. Přitom je známo, že každá protilátka se váže na daný protein s různou intenzitou. Jak jste došli k této unifikované nanášce?
4. V úvodu je uvedeno, že v odpověď na konkrétní stimuly dochází k aktivaci membránových receptorů různého typu, včetně tyrozinkynázových receptorů a receptorů spřažených s G proteiny. Na tyto receptory se dále váže fofatidylinositol-3-kináza. Mohla byste jmenovat konkrétní příklady receptorů, na které se váže enzym fofatidylinositol-3-kináza?

### **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): **1**

Datum vypracování posudku: 31.8.2016

Podpis oponenta: