

Posudek oponenta diplomové práce

Jméno a příjmení uchazeče/ky: Kateřina Neumannová

Název práce: Adenosinové receptory a transportéry v srdci potkana: vliv adaptace na chronickou hypoxii

Jméno a příjmení oponenta (včetně titulů): Mgr. Markéta Hlaváčková, Ph.D.

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

1. Rozsah práce a její členění

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

2. Odborná správnost

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

3. Uvedení použitých literárních a jiných zdrojů

A	adekvátní, všechny převzaté údaje s citací zdroje, celkový počet citací odpovídá charakteru práce	<input checked="" type="checkbox"/>
B	uspokojivé, s občasnými neobratnostmi (zejm. v umístění odkazů) nebo s celkově nižším počtem citací	<input type="checkbox"/>
C	s vážnějšími závadami, např. převažují "nestandardní" odkazy na učebnice, webové stránky, nebo se ojediněle vyskytuje opominutí odkazu na zdroj převzatých dat)	<input type="checkbox"/>
N	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

A	výborný, práce napsaná čtivě a srozumitelně, bez závažnějších gramatických nebo pravopisných chyb	<input checked="" type="checkbox"/>
B	velmi dobrý, ojedinělé stylistické neobratnosti, gramatické nebo pravopisné chyby	<input type="checkbox"/>

C	upokojivý, čtenější slohové neobratnosti, gramatické nebo pravopisné chyby, ojediněle se vyskytují obtížně srozumitelné nebo nejednoznačné formulace	<input type="checkbox"/>
N	nevyhovující, s četnými hrubými chybami	<input type="checkbox"/>

5. Formální a grafická úroveň práce

A	výborná, bez překlepů a chyb ve formátování	<input checked="" type="checkbox"/>
B	velmi dobrá, ojedinělé chyby formátu citací, překlepy, chybějící zkratky, apod.	<input type="checkbox"/>
C	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"/>
N	nevyhovující, s četnými hrubými chybami	<input type="checkbox"/>

Případný slovní komentář k bodům 1. až 5.:

Diplomová práce Kateřiny Neumannové se moc hezky čte. V úvodu je přehledně a výstižně popsána adenosinová signalizace a pak vztah adenosinové signalizace ke kardioprotekci navozené ischemickým preconditioningem, stručně je představena i adaptace na chronickou hypoxii. Cíle práce jsou jasně formulovány, výsledková část a diskuze pokrývají vytyčené cíle. Přestože ze závěru literárního úvodu vyplývá hypotéza práce, mohla být hypotéza práce zmíněna názorněji/konkrétně např. v kapitole "hypotéza a cíle práce". Práce přináší spoustu zajímavých výsledků.

V úvodu jsou zmíněny dva známé kardioprotektivní mechanismy, vedle adaptace na chronickou hypoxii a ischemického preconditioningu byl kardioprotektivní efekt popsán také např. po kalorické restrikci či adaptaci na fyzickou zátěž.

V metodické části by bylo lepší pro snazší orientaci a porovnání metod přípravy membránových frakcí sjednotit podmínky centrifugace, tedy zvolit buď relativní centrifugační sílu (rcf) nebo počet otáček za minutu (rpm) s typem rotoru.

U popisu grafů by se spíše hodilo použít termín potkání adaptovaní na místo chování v kontinuílní chronické hypoxii.

Graf 5, str. 45: V grafu jsou vyneseny výsledky exprese receptoru A_{2A} se střední chybou průměru, přestože jde o průměr výsledků pouze ze dvou nezávislých pokusů. Při $n=2$ uvádění střední chyby průměru nedává smysl.

B. Obhajoba - dotazy k obhajobě

Dotazy:

1. Exprese receptoru A_{2B} , graf 3, str. 40: Z grafu je patrné, že exprese tohoto receptoru klesla v levé komoře po adaptaci na režim nekardioprotektivní (INH/R) hypoxie. Signifikantní rozdíl je zde uveden vůči normoxické skupině (N), jak je to vůči skupině CNH? Obdobný dotaz mám i k porovnání exprese A_{2B} u INH/R a CNH skupiny v pravé komoře. Jelikož jde o porovnání kardioprotektivního režimu adaptace CNH a režimu INH/R, který kardioprotekci nenavozuje, bylo by zajímavé statisticky hodnotit a vyjádřit se i k rozdílům mezi těmito skupinami u dalších proteinů.

2. Porovnáme-li expresi receptoru A_{2B} ve vzorcích hrubých membrán (graf 3, str. 40) s expresí tohoto receptoru ve vzorcích membránových mikrodomén a většinové/neraftové části membrány (graf 8 či 9, str. 47 a 48), efekty adaptace na CNH a INH/R na expresi receptoru A_{2B} se neshodují. Signifikantní změny pozorované v hrubých membránách jako např. pokles exprese A_{2B} po adaptaci INH/R v levé komoře se u sumy membrán (mikrodoménová část membrány + většinová neraftová část) neprojevil. Čím si to vysvětlujete? Vycházelo se při přípravě mikrodomén z totožného postnukleárního supernatantu?
3. U stanovení lokalizace receptoru A_3 a transportéru CNT2 v membránových mikrodoménách či většinové neraftové části membrány, které jste připravovala dvěma různými metodami (pomocí 2% Tritonu X-100 či 1M Na_2CO_3), jste dospěla k naprosto opačným výsledkům. V diskuzi píšete, že by mohlo jít o izolaci jiných typů membránových mikrodomén použitými solubilizačními roztoky. Existuje nějaký důkaz k této hypotéze v literatuře? O jaké typy membránových mikrodomén by se mělo jednat? Na ukázkách frakcí mikrodomén získaných těmito dvěma metodami je vidět obdobné obohacení markerem, kaveolinem-1, obr. 9 a 10, str. 42. Marker CD71 pro většinovou/neraftovou část domény je ukázán jen po izolaci mikrodomén pomocí tritonu X-100, stanovovala jste lokalizaci CD71 také po druhé metodě izolace mikrodomén pomocí Na_2CO_3 ?
4. Je známo něco o efektu chronické hypoxie na expresi enzymů zodpovědných za tvorbu adenosinu (CD73, cN-I, SAHH) v srdeční tkáni?

Stanovisko k opravě chyb v práci

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

C. Celkový návrh

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

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

Datum vypracování posudku: **6.9.2016**

Podpis oponenta: