

Oponentský posudek na diplomovou práci

Bc. Eliška Valášková (2016) Vliv diabetes mellitus na reprodukční parametry a expresi vybraných testikulárních genů na myším modelu.

---

Diplomová práce Bc. Elišky Valáškové je zaměřena na vliv metabolické choroby diabetes mellitus na samčí reprodukci s využitím myšího modelu. Cílem práce bylo určit vliv DM nejen na reprodukční parametry, ale i na expresi vybraných testikulárních genů.

### **Hodnocení výsledků z hlediska tvůrčího přínosu**

Práce je pokusem zjistit změny, které diabetické prostředí způsobuje v reprodukčních parametrech (počet potomků, váha těla a jednotlivých orgánů, anogenitální vzdálenost, parametry spermií, parametry testikulární tkáně) v četnosti apoptózy, poměru jaderných proteinů, ale i v analýze genové exprese vybraných testikulárních genů. Autorky zjistila celou řadu změn jednotlivých parametrů, za nejcennější zjištění považují nalezené změny genové exprese.

Práce vychází z celé řady metod, prezentuje velké množství výsledků, které podle mého názoru vysoce překračují požadavky na diplomovou práci a svědčí o nadprůměrné péli autorky a zaujetí pro dané téma.

### **Formální kvalita předloženého spisu.**

Formálně perfektní včetně připojených obrázků, grafů a tabulek.

### **Jazyk**

Gramaticky naprosto v pořádku, věty jsou formulovány jasně srozumitelně (což u diplomových prací nebývá vždy).

### **Hodnocení části předkládaného spisu**

#### **1. Literární přehled**

Literární přehled pokrývá fyziologii samčí reprodukce, genovou a hormonální kontrolu spermatogeneze a popis diabetes mellitus. Popis fyziologie samčí reprodukce vychází z materiálů magisterského studia a rozepisuje se do hlubších podrobností. Rovněž v dalších částech přehledu autorka prokazuje široký rozhled v popisované problematice, o čemž svědčí velké množství zpracované literatury. Celý literární přehled je napsán jasně a srozumitelně.

#### **2. Materiál a metody**

Použitých metod je velké množství, jsou podrobně dokumentovány.

#### **3. Výsledky**

Velký objem získaných dat je prezentován podrobně, avšak přehledně. Použitý stejný styl grafů napomáhá přehlednosti a přispívá ke grafické úrovni práce. Vysoce hodnotím zejména část týkající se real-time PCR, výběr referenčních genů a následné statistické zpracování.

#### **4. Diskuze**

Diskuze je podrobná, svědčí o schopnosti autorky pracovat s literárními prameny. Autorka srozumitelně diskutuje i neočekávané výsledky, jakými jsou např. zvýšená exprese genů Prm1, Prm2, Tnp1 a Tnp2.

**Podle mého názoru autorka odevzdala nadprůměrnou diplomovou práci. Prokázala, že je schopná zvládnout celou řadu metodik, od jednodušších až po metodiky molekulární genetiky, a dále prokázala, že je schopna nejen získat velké množství kvalitních dat, ale je i kriticky vyhodnotit. Získaná data jsou navíc vynikajícím startovním můstkem pro další práci autorky.**

**Další připomínky a otázky do diskuze:**

V Úvodu by si otázka epididymální maturace (1.1.5) zasloužila podrobnější popis.

V diskuzi na str. 65 se zbytečně opakuje navození DB, které již bylo popsáno v Materiálu a metodice.

Str. 44, 3.14 Izolace RNA – z vlastní zkušenosti bych namísto Tri Reagent doporučil RNeasy kit (Qiagen). Použití je mnohem jednodušší, kvalita RNA dostatečná. Ale toto je samozřejmě jen doporučení.

Následující dotazy jsou míněny pouze jako příspěvek do diskuze.

Kontrolní testes a testes po DB se liší nejen ve váze, ale i v zastoupení jednotlivých buněčných typů. Vzhledem k tomu, že se izoluje celková RNA, nemůže dojít k částečnému zkreslení výsledků PCR, a to i přes použití referenčních genů?

Pokud ano, jak by tomu bylo možné zabránit? Byla by např. schůdná hybridizace *in situ* na řezu?

Který výsledek genové exprese považujete za nejzajímavější a plánujete s ním dále pracovat?