

**UNIVERZITA KARLOVA**  
**FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ**

Katedra biologických a lékařských věd

Studijní program: Farmacie

**Posudek oponenta zvolte typ práce**

Autor/ka práce: **Alexandra Hudecová**

Vedoucí práce: prof. PharmDr. Petr Nachtigal, Ph.D.

Rok obhajoby: 2021

Garant práce:

Oponent/ka: PharmDr. Jana Rathouská, Ph.D.

Název práce:

**Sledovanie zmeny exprese vybraných ukazovateľov u glukózou indukovaného  
endotelové dysfunkcie in vitro**

---

Rozsah práce: počet stran: 99, počet obrázků: 28, počet tabulek: 6, počet citací: 81

**Hodnocení práce:**

- a) Odborná úroveň a zpracování teoretické části: výborná
- b) Náročnost použitých metod: výborná
- c) Zpracování metodické části (přehlednost, srozumitelnost): výborné
- d) Kvalita získaných experimentálních dat: výborná
- e) Zpracování výsledků (přehlednost, srozumitelnost): výborné
- f) Hodnocení výsledků včetně statistické analýzy: výborné
- g) Myšlenková úroveň a rozsah diskuse výsledků: výborná
- h) Srozumitelnost, výstižnost a adekvátnost závěrů: výborná
- i) Splnění cílů práce: výborné
- j) Množství a aktuálnost literárních odkazů: výborné
- k) Jazyková úroveň (stylistická a gramatická úroveň): výborná
- l) Formální úroveň práce (členění textu, grafické zpracování): výborná

Doporučuji diplomovou práci k uznání jako práci rigorózní

Případné poznámky k hodnocení:

Předložená diplomová práce studuje změny exprese vybraných markerů endotelové (dys)funkce (eNOS, ICAM-1, VCAM-1, E-selektinu) a změny exprese endoglinu (TGF-βRIII) v in vitro modelu za použití endotelových buněk (HAEC). Podnětem pro změny exprese je pak vystavení buněk vysokým hladinám glukózy a působení nové experimentální monoklonální protilátky TRC 105 (Carotuximab), která má schopnost vázat a blokovat endoglin. Cíl práce je jasně definován, k experimentu jsou využity dvě velmi citlivé metody z oblasti imunochemie (průtoková cytometrie) a molekulární biologie (PCR). Výsledky jsou diskutovány přehledně a věcně, závěry jsou vysloveny opatrně, s odkazem na další budoucí studie.

Dotazy a připomínky:

V textu je jen minimum překlepů, k práci mám jen formální detaily - latinské pojmy se nesklouňují (diabetes mellitus), rozdíl ve vyjádření "X procent" vs. "Xprocentní" (např. 10 % = deset procent vs. 10% = desetiprocentní), na odkaz v textu na obr. 11 (str. 37) se čeká až do strany 41.

Dotazy:

- 1.) V kapitole 2.4 (Diabetes mellitus) popisujete význam glukózových transportérů GLUT v  $\beta$  buňkách pankreatu, které jsou klíčové pro sekreci inzulinu. V textu na straně 27 podtrhujete význam GLUT-1 transportéru, avšak na obrázku na straně 28 figuruje GLUT-2 transportér. Předpokládám, že tento "drobný rozpor" nějak souvisí s různým významem těchto transportérů u myši a u lidí. Můžete detailněji vysvětlit?
- 2.) V kapitole 2.7 (Průtoková cytometrie, FC) rozlišujete dva typy metody podle uspořádání (použitých protilátek), tedy na přímou a nepřímou metodu. Jaká je asi největší výhoda nepřímé metody? Jaký typ průtokové cytometrie byl použit ve Vašem experimentu?
- 3.) V diskusi a v závěru práce používáte formulace typu "Poprvé jsme v této diplomové práci ukázali, že carotuximab blokuje i proteinovou expresi Eng po vystavení vysokým hladinám glukózy, v porovnání s buňkami vystavenými pouze vysokým hladinám glukózy", a tedy, že "carotuximab snižuje proteinové hladiny Eng po vystavení vysokým hladinám glukózy". Vezmeme-li v potaz předpokládaný mechanismus účinku carotuximabu (str. 42), není pak na místě místo "blokování exprese proteinu" označit efekt TRC 105 spíše jako "stimulace odštěpování proteinu"? A pokud by tomu tak bylo, je vůbec možné pak porovnávat výsledky Vámi použitých metodik PCR (mRNA) a FC (protein)?
- 4.) V grafu č. 6 ve výsledkové části je celkem patrný výrazný pokles množství proteinu na membránách HAEC po přidání TRC 105, a to pod vlivem glukózy, ale i bez něj. Nezkoušeli jste sekundárně měřit také množství solubilního (tj. odštěpeného) endoglinu v médiích těchto buněk?

**Celkové hodnocení, práce je: výborná, k obhajobě: doporučuji**

V Hradci králové dne 25.5. 2021

.....  
podpis oponentky / oponenta