

UNIVERZITA KARLOVA
FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ

Katedra farmakologie a toxikologie

Studijní program: Farmacie

Posudek oponenta experimentální práce

Rok obhajoby: 2022

Autor/ka práce: **Helena Turková**

Vedoucí práce: Prof. PharmDr. František Štaud, Ph.D.

Konzultant/ka: Mgr. Hana Horáčková

Oponent/ka: PharmDr. Eduard Jirkovský, Ph.D.

Název práce: **Placentární transport dopaminu a noradrenalinu**

Rozsah práce: 56 stran, 8 obrázků, 11 tabulek, 85 citací

Hodnocení práce:

- | | |
|--|-------------|
| a) Odborná úroveň a zpracování teoretické části: | výborná |
| b) Náročnost použitých metod: | výborná |
| c) Zpracování metodické části (přehlednost, srozumitelnost): | velmi dobré |
| d) Kvalita získaných experimentálních dat: | výborná |
| e) Zpracování výsledků (přehlednost, srozumitelnost): | výborné |
| f) Hodnocení výsledků včetně statistické analýzy: | velmi dobré |
| 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:

Celá předložená práce je přehledná, psaná výstižně a stručně, bez zbytečných prodlužujících pasáží a obsahuje minimum překlepů či formálních chyb. Vytyčené cíle jsou splněny a výsledky logicky diskutovány. V práci jsou používány relevantní a recentní citace. Velká část práce byla nedávno publikována v odborném časopise, jehož je autorka spoluautorem, úroveň předložené práce tedy odpovídá přijatému vědeckému článku po recenzním řízení. I přesto mám několik dotazů a připomínek k dané práci.

Dotazy a připomínky:

1. Popisky v obrázku 1 by dle mého názoru měly obsahovat pro větší názornost všechny termíny, které jsou popisovány jak v textu kapitoly 3.1.2, tak i v dané legendě. Chybí tak zobrazení kotyledonu, trofoblastu, a hlavně i bazální a mikrovilózní membrány, o kterých celá ta práce je. Taktéž na obrázku 2 evidentně chybí znázorněný „pruh B“, odebíraný při izolaci bazální membrány.
2. Jestli jsem dobře pochopil, vezikuly obsahují viabilní membrány se zachovalou fyziologickou stavbou membrány. Dá se nějak hodnotit jejich integrita?

Reaguji na použitou „netoxickou“ koncentraci DMSO na rozpouštění testovaných látek?

3. Nebyl v literatuře hodnocen vliv vyšší použité teploty při hodnocení pasivní difuze nebo nescifické vazby neurotransmiterů přes membrány? Myslím použití fyziologické teploty 37 °C v porovnání s „laboratorní“ teplotou, při které může dojít k změně fluidity či lipofilní charakteristiky membrány?
4. V metodice jsem nenašel z jaké tkáni či membrány a jak byly připraveny vzorky pro ddPCR a imunodetekci? Šlo o celotkáňový homogenát? Bylo by možné použít připravené vezikuly k tomuto účelu?
5. Proč bylo nutné u ddPCR používat referenční geny, když jste hodnotili absolutní kvantifikaci? Jak se v takovémto případě používá normalizace na referenční gen. Data uvedená v textu výsledků jsou prezentována jako medián \pm směrodatná odchylka?
6. Ohledně statistického zhodnocení dat – uváděný počet opakování je počet jednotlivých placent, ze kterých se izolovaly vezikuly a dělalo ddPCR a imunodetekce?
7. U western blotu není zmíněn v metodice krok „stripování“ membrány mezi detekcí dopaminového transportéru a β -actinu. Neovlivnila přítomnost první sekundární protilátky vyhodnocování druhé? V práci jsou prezentovány pouze výřezy membrán. Z výsledků je patrné, že v placentách je přeci jenom trochu dopaminový transportér exprimován – byla imunodetekce proteinu provedena na stejných vzorcích jako exprese genu na ddPCR a byl mezi těmito vzorky nějaký shodný trend?

hodnocení, práce je: výborná

k obhajobě: doporučuji

V Hradci Králové

5. září 2022

podpis oponenta/ky