

**UNIVERZITA KARLOVA
FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ**

Katedra farmakologie a toxikologie

Studijní program: Farmacie

Posudek oponenta diplomové práce

Rok obhajoby: 2023

Autor/ka práce: **Dominika Kleplová**

Vedoucí práce: PharmDr. Alejandro Carazo, Ph.D.

Konzultant/ka: ---

Oponent/ka: PharmDr. Ivan Vokřál, Ph.D.

Název práce: **Studium exprese a toxicity derivátů katecholu v buněčné linii MCF-7**

Rozsah práce: 54 stran, 20 obrázků, 9 tabulek, 49 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): | velmi dobré |
| 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): | velmi dobrá |
| l) Formální úroveň práce (členění textu, grafické zpracování): | výborná |

Doporučuji diplomovou práci k uznání jako práci rigorózní

Případné poznámky k hodnocení:

Diplomová práce studentky Dominiky Kleplové se zaměřuje na studium cytotoxické aktivity u třinácti vybraných derivátů katecholu na buněčné nádorové linii MCF-7 a vlivu těchto látek na genovou expresi dvou vybraných genů Estrogen Receptor 1 a Trefoil Factor 1. Práce je zpracována přehledně, čitelně a bez překlepů. Obsahově je práce vyvážená, i když v některých částech až příliš stručná. Zejména bych očekával více informací o derivátech katecholu použitých v samotné práci. Dále se v práci vyskytují drobné terminologické nepřesnosti a nejasnosti. Více viz mé připomínky a dotazy.

Celkově práci hodnotím jako zdařilou, s velkým množstvím získaných dat a vhodnou k obhajobě.

Dotazy a připomínky:

připomínky:

V abstraktu je vysvětlena většina zkratk až na 4-MC a 3-MOC. Bylo by vhodné dodržet styl a mít v abstraktu uvedené celé názvy i u těchto dvou látek.

U obrázku č. 1 uvedený zdroj není v seznamu citací. I zdroje obrázků by v tomto seznamu měly být.

str. 16 - věta "Dalšími možnostmi je použití inhibitorů aromatasy, léčiva fulvestrantu (antiestrogen), v současné době je využívána biologická léčba." by měla být formulována lépe.

str. 24 - výraz "in vivo" by se měl uvádět kurzívou

str. 25 - při trypsinizaci buněk zjišťujeme, zda jsou buňky uvolněny ze dna kultivační lahve, nikoliv ze stěn.

str. 25 - chybí informace o poměru buněk pro nasazení do nové lahve.

Při psaní odkazů na obrázky nebo tabulky je lépe psát tyto odkazy na konci věty před tečkou, a nikoliv až za ní.

Obrázek 11 ukazuje pouze 60 jamkovou destičku, nikoliv 96 jamkovou, jak je uvedeno v popisku.

V textu se v praktické části objevují pojmy jako Premix a Mastermix ve stejném významu. Bylo by lepší používat jen jeden z těchto pojmů.

Kapitola "4.3.2 Polymerázová řetězová reakce" v části metodiky mohla být spojena s odstavcem Fáze PCR ze strany č. 37, jelikož popisují to samé.

U popisu reverzní transkripce a metody q-PCR postrádám koncentrace RNA, resp. cDNA použitých v reakcích.

V metodice mi chybí způsob (např. rovnice, odkaz na literaturu), podle které byly vypočítány výsledky relativní genové exprese vámi sledovaných genů.

V metodické části mi chybí kapitola "Statistika", kde by bylo uvedeno, jaké statistické metody byly pro hodnocení dat použity. V popisu gravů je pouze uveden statistický test One-way ANOVA, bez bližších detailů ohledně použitého post hoc testu.

U grafů 1-3 chybí popisek osy Y

Na straně 43 je uvedeno, že u vzorků ovlivněných estradiolem se projevila represivní exprese, avšak z grafu není zřejmé, že by tato represivní exprese byla statisticky významná. Proto se mi zdá daný závěr jako předčasný.

V diskusi je na str. 47 uvedena věta: "V tomto případě byla aktivita pozitivní kontroly estradiolu několikanásobně vyšší oproti genu ESR1, což lze očekávat, protože zde klasicky platí, že čím vyšší exprese, tím silnější účinnost." Domnívám se, že myšlenku by šlo formulovat lépe.

Dotazy:

V práci mi chybí, na základě čeho byly vybrány studované látky. Můžete výběr nějak vysvětlit?

V práci, uvádíte, že karcinom prsu je považován za nádor s nejvyšší mortalitou. Je tomu skutečně tak?

Na str. 14 uvádíte, že mezi ovlivnitelné faktory pro vznik karcinomu prsu patří vysoká hladina endogenních estrogenů. Na rozdíl například od konzumace alkoholu se domnívám, že pacientka nemůže tuto hladinu sama ovlivnit. Nebo jak to bylo v práci myšleno?

Str. 17 - je uváděno, že buněčné linie jsou nedílnou součástí diagnostiky karcinomu prsu. Jak přesně se buněčné linie v diagnostice karcinomu prsu u pacientů uplatňují?

Při přípravě destičky pro q-PCR je obvyklé používat také negativní kontrolu, tedy do reakce dávat místo cDNA pouze vodu. Použili jste tento postup také?

Při studiu genové exprese jste použili estradiol jako přirozený endogenní ligand ER. U studie toxicity žádný přirozený endogenní ligand použit nebyl. Je znám z literatury efekt estradiolu na viabilitu vámi použité buněčné linie MCF-7/S0.5?

hodnocení, práce je: výborná

k obhajobě: doporučuji

V Hradci Králové

13. září 2023

podpis oponenta/ky