

## Posudek oponenta diplomové práce

Jméno a příjmení uchazeče/ky: **Bc. Anna Hronová**

Název práce: **Zkoumání změn v epigenetických modifikacích v mozku potkana vyvolaných působením morfinu**

Jméno a příjmení oponenta (včetně titulů): RNDr. Lenka Roubalová, 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

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

### 2. Odborná správnost

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

### 3. Uvedení použitých literárních a jiných zdrojů

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

<b>A</b>	výborný, práce napsaná čtivě a srozumitelně, bez závažnějších gramatických nebo pravopisných chyb	<input type="checkbox"/>
<b>B</b>	velmi dobrý, ojedinělé stylistické neobratnosti, gramatické nebo pravopisné chyby	<input checked="" type="checkbox"/>
<b>C</b>	uspokojivý, čtenější slohové neobratnosti, gramatické nebo pravopisné chyby, ojediněle se vyskytují obtížně srozumitelné nebo nejednoznačné formulace	<input type="checkbox"/>

<b>N</b>	nevyhovující, s četnými hrubými chybami	<input type="checkbox"/>
----------	---	--------------------------

### 5. Formální a grafická úroveň práce

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

Případný slovní komentář k bodům 1. až 5.:

Předložená diplomová práce splňuje veškeré požadavky kladené na DP. Autorka zvládla řadu experimentálních metod, které byly na pracovišti nově zaváděny. Je třeba ocenit zpracování velkého množství vzorků izolovaných z pokusných zvířat, množství provedených experimentálních měření a vyhodnocení získaných výsledků.

Práce je standardně členěna, v teoretickém přehledu se autorka věnuje problematice vzniku drogové závislosti, molekulárnímu mechanismu působení morfinu a abstinčním syndromu. Rovněž jsou podrobně popsány epigenetické a epitranskriptomické modifikace a mechanismy, jejichž studiu se práce věnuje v souvislosti s drogovou závislostí a morfinovou abstinencí.

Cíle práce jsou formulovány velmi stručně ale přehledně.

Metodická část práce je popsána dostatečně podrobně včetně složení jednotlivých používaných roztoků a specifikace experimentálních přístrojů. Výsledky jsou zpracovány ve formě přehledných grafů a velmi podrobně popsány a diskutovány.

Citace literárních zdrojů jsou uvedeny až na drobné výjimky v dostatečné míře, celkem je uvedeno kolem 150 citací.

V původním záměru práce bylo také stanovení epigenetických modifikací v DNA izolované z částí mozku pokusných zvířat, avšak v kapitole 3., kde autorka popisuje izolaci a čištění DNA, je konstatováno, že se přes veškerou snahu nepodařilo získat dostatečné množství kvalitní DNA pro provedení plánovaných stanovení jejích epigenetických modifikací. Pokud se autorka hodlá věnovat dalšímu studiu, bylo by jistě vhodné zaměřit se na tuto část a doplnit experimentální data získaná v rámci této práce, neboť zkoumaná problematika je poměrně složitá a dosud málo prozkoumaná.

#### Připomínky

Práce je napsána poměrně srozumitelně, bylo by však třeba věnovat více pozornosti formální a pravopisné stránce práce, vyskytuje se zde poměrně dost překlepů, pravopisných chyb, drobných nepřesností a ne úplně vhodně zvolených formulací, některé části vět na sebe správně nenavazují.

Např. na straně 31 je chybně uvedeno: „Blotování probíhalo při konstantním proudu 100 Voltů...“.

Popis statistického vyhodnocení výsledků je až příliš stručný a ne úplně dostačující, není uvedeno, jaký druh post-hoc testu byl v rámci jednofaktorového testování ANOVA použit. Autorka zde také uvádí, že pro statistické vyhodnocení používala data z nejméně tří nezávislých experimentů, avšak v případě stanovení hladin N<sup>6</sup>-metyl-adenosinu jsou data pouze ze dvou nezávislých měření (obr. 4.1.).

V experimentální části, kde je popisována aplikace morfinu pro vyvolání závislosti u pokusných zvířat, chybí uvedení zdroje, autorka pouze konstatuje, že takováto aplikace vede ke vzniku závislosti a tolerance a že to bylo dříve prokázáno, ale příslušná citace zdroje uvedena není.

Diskuzi by bylo vhodné rozdělit na podkapitoly podle jednotlivých výsledků pro lepší přehlednost.

Při uvádění odkazů na literaturu je užíván styl “Novák et al.” - dle mého názoru by v česky psané práci mělo být použito spíše “Novák a spol.” či “Novák a kol.”.

Přes uvedené drobné připomínky lze celkově konstatovat, že autorka prokázala schopnost samostatné teoretické i experimentální práce. Předloženou diplomovou práci doporučuji k obhajobě.

## B. Obhajoba - dotazy k obhajobě

- 1) Jak byste vysvětlila, že morfin, na rozdíl od plných agonistů, selhává ve schopnosti vyvolat internalizaci  $\mu$ -opioidních receptorů?
- 2) Co víte o bisulfitové konverzi a neuvažovali jste o využití této metody pro studium metylace nukleových kyselin?
- 3) Jak si vysvětľujete poměrně velký rozdíl v hladinách N<sup>6</sup>-metyl-adenosinu stanovených u kontrolních skupin 1D (1 den abstinence) a 4T (4 týdny abstinence) ve striatu, cerebellu – viz obr. 4.1.
- 4) Výsledky Vaší práce naznačují, že hladiny zkoumaných transkripčních regulátorů a enzymů, které se účastní m<sup>6</sup>A modifikace, se při abstinenci mění v čase a jsou místně specifické. O jakých dalších mechanismech lze uvažovat při řízení m<sup>6</sup>A modifikace v průběhu abstinence?

## Stanovisko k opravě chyb v práci

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

## C. Celkový návrh

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

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

Datum vypracování posudku: 20.5.2024

Podpis oponenta: