

Posudek oponenta na diplomovou práci

oponentský posudek

Jméno posuzovatele:
Mgr. Vendula Lužná, Ph.D.

Datum:
14.5.2023

Autor:
Bc. Klára Janáčková

Název práce:
Úloha glukokortikoidů při synchronizaci fetálních suprachiasmatických jader

Cíle práce

Diplomová práce Kláry Janáčkové si klade za cíl ověřit dříve získané poznatky o působení GC na fetální SCN a následně na tyto navázat při zjišťování mechanismu tohoto působení mimo jiné díky zavedení nových metod.

Struktura (členění) práce, odpovídá požadovanému? ANO

Rozsah práce (počet stran): 80

Je uveden anglický abstrakt a klíčová slova? ANO

Je uveden seznam zkratk? ANO

Literární přehled:

Odpovídá tématu? ANO

Je napsán srozumitelně? ANO. Autorka začíná literární přehled popisem molekulárního mechanismu biologických hodin, což je pro potenciálního méně zasvěceného čtenáře nešťastné. Širší kontext cirkadiálních rytmů je zmíněn pouze v úvodu, ale dle mého názoru má tento sloužit jako svébytný text a v samotné rešerši by opět mělo být pro čtenáře přívětivější uvedení do tématu. Především druhá polovina rešerše je ale psána s velkou mírou pochopení tématu, přehledně a podrobně.

Použil(a) autor(ka) v rešerši relevantní údaje z literárních zdrojů? ANO, autorka použila velké množství relevantních zdrojů, jak starších, tak recentních. Tam, kde je to žádoucí správně použila v omezené míře přehledové články.

Jsou použité literární zdroje dostatečné a jsou v práci správně citovány? ANO, jen se často objevuje řazení citací v textu náhodně, bylo by lepší je řadit chronologicky, jak bývá zvykem – např. na straně 14: (Ding et al., 1998; Jakubcakova et al., 2007; Tischkau et al., 2003) nebo na straně 63: (Barca-Mayo et al., 2017; Harbour et al., 2014; Park et al., 2016), ale i na jiných místech.

Materiál a metody:

Odpovídají použité metody experimentální kapitole? ANO

Kolik metod bylo použito? Autorka pracovala s organotypickými explantáty z fetálních SCN,

na které aplikovala různé látky. Dále je použita metoda RT-qPCR se všemi kroky, které k ní vedou.

Jsou metody srozumitelně popsány? ANO

Experimentální část:

Je vysvětlen cíl experimentů? ANO

Je dokumentace výsledků dostačující? ANO, dokumentace výsledků je dle mého názoru dostatečná, v první části experimentální práce možná až nadměru podrobná, když vezmu v úvahu, že se jedná o potvrzení již publikovaných dat (viz dále). Celkově je však kapitola výsledky málo popisná, není například zcela jasné, proč se některé parametry v poslední části práce testovaly v uvedené CT apod. Pro čtenáře, který nemá s danou metodikou nebo chronobiologií osobní zkušenost mohou být některé chybějící informace překážkou v pochopení experimentů.

Postačuje množství experimentů k získání odpovědi na zadané otázky? ANO, nicméně se domnívám, že při lepším rozložení času by autorka mohla získat podrobnější výsledky v druhé části práce.

Diskuze:

Je opravdu diskuzí, nejde jen o konstatování vlastních výsledků? ANO, úroveň diskuse hodnotím jako velmi vysokou, autorka umě spekuluje nad získanými výsledky, snaží se je zasadit do kontextu dřívějších poznatků a v závěru diskuse také zmiňuje nedostatky práce a nastiňuje směr, kterým by se mohl výzkum tématu dále ubírat. Především zařazení této závěrečné části, která je často součástí vědeckých publikací, ale méně často závěrečných studentských prací, je velmi přínosné pro autorku samotnou, ale v širším smyslu také pro vědeckou práci obecně.

Jsou výsledky porovnávány s literaturou? ANO

Jsou uvedeny nějaké hypotézy či návrhy na další řešení problematiky? ANO

Závěry (Souhrn):

Jsou výstižné? ANO

Formální úroveň práce (obrazová dokumentace, grafika, text, jazyková úroveň):

Autorka dokládá své výsledky velkým množstvím grafů, které jsou přehledně zpracované a dobře popsány (až na některé překlepy). Literární rešerši, zvláště její druhé části, kdy se jedná o poměrně složité téma, by možná slušela větší obrazová dokumentace. Ta, která je použita je vhodně umístěná a komentovaná.

V práci se vyskytuje množství překlepů, které není nijak velké, nicméně ještě jedno podrobné přečtení by je pomohlo odstranit. Především rušivé jsou překlepy v částech práce jako je abstrakt nebo pojmenování (pod)kapitol (2.4., 2.3.3. druhá část). V abstraktu se nachází několik překlepů, včetně důsledně používaného sousloví mateřské podmínky namísto podnětů napříč prací. Překlepy jsou také v kapitole Cíle práce. Napříč textem se často objevují chyby ve skloňování, které jsou typické při několikanásobném přepisování textu. Také tabulka koncentrací v kapitole 4.5.1. obsahuje chybu v informaci o poslední výsledné koncentraci DEX, což je v kontextu práce docela nešťastné místo pro překlep.

Celkově práce působí stran péče, kterou jí autorka věnovala, nevyváženě. Zatímco abstrakt, úvod a první část literárního přehledu působí, že byly šité trochu horkou jehlou, druhá část rešerše, diskuse a závěr mají naopak vysokou úroveň a je vidět, že autorka nad jejich obsahem dlouho přemýšlela a má je pěkně zformulované.

Splnění cílů práce a celkové hodnocení:

Práce splnila cíle, které si kladla. Obecně je jistě dobré, že se nejdříve věnovala ověření dříve získaných publikovaných výsledků, jelikož ve vědě k takovému ověřování moc často nedochází. Nicméně vysvětlení, proč se tak dělo se čtenář dozví až v diskusi – tedy že byla použita vylepšená metodika při odběru explantátů. Domnívám se však, že není úplně šťastné, aby více než třetina práce stála právě na tomto ověřování, zvláště, když tvorbu organotypických explantátů a práci s myším modelem zajišťoval odborný personál laboratoře.

Druhá, velmi přínosná a inovativní část práce, tedy izolace RNA z explantátů a následné stanovování genové exprese, tak nedostalo tolik prostoru a času, jak by mohlo. Zároveň jsem si vědoma, že zavádění nové metody, zvláště s takto složitým modelem, jakým fetální mozkové explantáty bezesporu jsou, je časově náročné a získané výsledky jsou velmi cenné pro další práci. V tomto směru práce jednoznačně splnila svůj účel a cíl.

Otázky a připomínky oponenta:

K práci mám několik připomínek a otázek:

Na straně 13 uvádíte, že SCN se skládá z neuronů a gliových buněk oscilujících ve stejné fázi a citujete zde práci z roku 1995. Nicméně o gliových buňkách v SCN máme již nové poznatky. Mohla byste říct, jak je to tedy s oscilacemi především astrocytů v SCN?

Na straně 21 uvádíte že: „*U zvířat s mutovanými GR nebo selektivním odstraněním nadledvin, adrenalektomií (ADX), přetrvává rytmičnost a fáze v oscilaci hodinových genů, přestože je v závislosti na orgánu a typu tkáně rozdílně ovlivněna jejich amplituda a fáze.*“ Jak je to tedy s fází hodinových genů? Je nebo není ovlivněna a případně jak?

V práci používáte jinou (vyšší) koncentraci DEX, než jaké je použita v původní publikaci. Zdůvodňujete to tím, že jste testovali, zde vyšší koncentrace bude mít větší efekt a došla jste k závěru, že ne. Nebylo by tedy lepší se držet původní koncentrace, která byla detailně stanovována, zvláště v případě, kdy již ta je poměrně vysoká a odpovídá silnému stresovému stimulu? Nebylo by lepší zkusit naopak nižší koncentrace dané látky, které by například mohly mimikovat mateřské cirkadiální výkyvy v CG?

Jak si vysvětlujete, že k akutní změně amplitudy došlo jen při nejnižší vámi používané koncentraci? Jak se dále chovaly explantáty po použití vysokých dávek DEX?

Z kolika explantátů jste nakonec izolovala RNA pro stanovení genové exprese? V tabulce 19 uvádíte výtěžnost izolace, ale dále není jasně popsáno, zda jeden vzorek je jeden explantát nebo více.

Při stanovování genové exprese po aplikaci DEX na explantáty by se nabízelo zkoumat také vliv na expresi *Nr1dl* genu, který je podle všeho rytmický již v E17. Proč k tomu nedošlo?

Na straně 63 uvádíte, že: „Metodou RT-qPCR byla u E17 SCN explantátů porovnána relativní exprese hodinových genů *Per1*, *Per2*, *Nr1d1* a *Bmal1* ve dvou bodech cirkadiálního cyklu, a to v CT 5 a CT 17.“ Jak jste stanovila přesnou dobu CT?

Návrh hodnocení oponenta

výborně velmi dobře dobře nevyhověl(a)

Podpis oponenta: