

Posudek oponenta na dizertační práci Mgr. Tomáše Muthného: „Metabolismus proteinů v izolovaném kosterním svalu potkana – vliv inhibitorů proteasomu“

Předložená dizertační práce byla vypracována pod vedením školitele doc. MUDr. Ivana Tilšera, CSc. a školitele specialisty prof. MUDr. Milana Holečka, DrSc., převážně v laboratořích Univerzity Karlovy v Praze, Lékařské fakulty v Hradci Králové. Předložený elaborát je složen ze dvou částí – dizertace koncipované standardním způsobem, a příloh, reprezentovaných jednak obrazovou dokumentací k metodickému postupu, jednak vědeckými publikacemi uchazeče, obsahujícími výsledky experimentální práce získané v rámci dizertace. Vlastní spis je členěn obvyklým způsobem a má všechny náležitosti charakteristické pro kvalifikační práci tohoto typu. Rozsah této části je 82 stran textu. V úvodu je podán velmi kvalitní přehled současného stavu problematiky v oblasti metabolismu proteinů, ubikvitin-proteasomálního systému a jeho významu v degradaci proteinů kosterního svalstva při katabolismu bílkovin a přehled inhibitorů proteasomální degradace. Cíle práce pak vycházejí ze současného stavu poznání a patří k nim zejména:

- zavedení vhodného modelu proteokatabolického stavu u laboratorního potkana a jeho využití v hodnocení metabolismu proteinů a aminokyselin v různých typech kosterních svalů
- získání informací o účinku nových inhibitorů proteasomu, odvozených od homobelaktosinu a posouzení účinků neznámějšího inhibitoru proteasomového systému, tj. bortezomibu na metabolismus proteinů kosterního svalstva v proteokatabolickém stavu.

Metodika je popsána na 12 stranách textu a v souladu s obecným požadavkem jsou postupy uvedeny tak, aby byly plně srozumitelné a mohly sloužit jako návod pro další pracovníky. Metodické postupy jsou moderní a odpovídající plnění cílů práce. Navíc jsou popisy metodických postupů doplněny kvalitní obrázkovou dokumentací v příloze.

Výsledková část (25 stran) svědčí o rozsáhlé experimentální práci a naplňuje stanovené cíle ve třech základních oblastech, uvedených výše. Součástí výsledkové části práce je i 15 tabulek a slovní komentář výsledků. Výsledky lze shrnout tak, že

- použité modely experimentálního zánětu s využitím podkožní aplikace terpentýnového oleje i intraperitoneálního podání endotoxinu jsou vhodným a funkčním modelem proteokatabolického stavu
- byl nalezen rozdíl mezi rychlejší metabolizací ve svalech s převahou červených-pomalých vláken (SOL) ve srovnání s bílými-rychlými vlákny (EDL).
- rychlá vlákna reagovala na proteokatabolický stimul výrazněji než vlákna pomalá.

V části zabývající se inhibitory proteasomu v různých typech kosterního svalstva bylo mj. zjištěno, že chemicky modifikované belaktosiny jsou účinnými inhibitory proteasomu in vitro a ukazují na intervenci ubikvitinového systému v degradaci svalových proteinů. Byl též zjištěno, že obě látky aktivují oxidaci leucinu pouze v SOL, zatímco inhibují proteosyntézu jen v EDL. Dále byly získány výsledky, přibližující mechanismy účinku bortezomidu na metabolismus bílkovin a aminokyselin v různých typech svalů při srovnání svalů intaktních a septických potkanů. V závěru práce jsou výsledky přiměřeně diskutovány.

Použitá literatura představuje celkem 160 položek vesměs aktuálních publikací posledních let, což svědčí o důkladné rešerši a využití získané literatury. Dovoluji si vyzdvihnout způsob citací v textu (jménem a v ročením tak, jak je zvykem i v biochemické literatuře) a úplné citace v seznamu literatury, což usnadňuje čtenáři představu o významu jednotlivých položek.

Souhrn je prezentován jasně a s přehledem.

Samostatně bych vyzdvihl publikační aktivitu doktoranda, zejména dvě základní publikace s IF, kde je doktorant prvním autorem, i zahraniční prezentace výsledků.

Připomínky a dotazy:

K práci nemám zásadní připomínky. Lze diskutovat o způsobu psaní některých frekventovaných termínů a chemických názvů (např. na jedné straně proteasom, na druhé straně ubiquitin...), což je však pro hodnocení celkové úrovně práce nepodstatné.

Dotazy:

- Jaké jsou důvody značně rozdílných podmínek měření enzymových aktivit katepsinu a proteasomu v části věnované betalakosinům, když se v principu jedná o velmi podobné metody?
- Proč autor betalaktosiny testoval pouze na intaktních, a nikoliv také na proteokatabolických potkanech, jak učinil v případě bortezomibu?

Závěrečné zhodnocení dizertace:

Předložená dizertace splňuje všechna kritéria, kladená na práci tohoto typu a kvalifikační úrovně. Doporučuji ji proto jako základ pro obhajobu k získání hodnosti PhD.

V Hradci Králové 11. března 2010

Prof. MUDr. Jaroslav Dršata, CSc.
Katedra biochemických věd
Univerzita Karlova v Praze
Farmaceutická fakulta v Hradci králové