

Oponentský posudek disertační práce

RNDr. Adriany Vadászové-Soukup

Vplyv tyroidných hormónov na expresiu izoforiem MyHC v kostrových svaloch potkana

Disertace byla vypracována v Oddělení funkční morfologie Fyziologického ústavu AV ČR v Praze v úzké spolupráci s několika domácími a zahraničními pracovišti. Zabývá se především vlivem změněné hladiny tyroidních hormonů na expresi isoform těžkých řetězců myosinu (MyHC) na úrovni proteinu a mRNA v pomalém (soleus, SOL) a rychlém (extensor digitorum longus, EDL) kosterním svalu dospělého potkana. Druhou část představují výsledky pilotní studie, ve které autorka sledovala, zda chirurgický zákrok spojený s heterochronní isotransplantací svalu ovlivní expresi MyHC jak v hostitelském svalu, tak v odpovídajících svalecth obou končetin u euthyroidních, hypothyroidních a hyperthyroidních zvířat. Zatímco nesporným kladem první části je komplexní přístup, který přinesl nové cenné poznatky o úloze tyroidních hormonů v pozdních vývojových změnách exprese MyHC a umožnil porovnat odpovědi odlišných svalových typů na úrovni transkriptů a příslušných isoform proteinů, druhá část zahrnuje pouze výsledky výchozích kontrolních experimentů, které jsou součástí širšího projektu, jehož cílem je sledovat vliv tyroidního stavu na expresi MyHC v transplantovaném svalu.

Spis je poměrně útlý, má celkem 62 stran včetně dokumentace a seznamu více než 150 použitých citací, které zahrnují jak starší klasické práce, tak nejnovější články, vztahující se k danému tématu. Je členěn obvyklým způsobem na literární úvod, krátkou metodickou kapitolu, experimentální část, diskusi a stručný závěr. Úvod je stručný a koncisení, zaměřený úzce na studovaný problém a neodbíhající od tématu. Ukazuje, že není vždy nutné popsat desítky stran, aby bylo zřejmé, že se autor dobře orientuje v problematice a zná příslušnou literaturu. Některé části by však přece jen mohly být pojaty poněkud podrobněji a pojmy lépe vysvětleny. Nespecializovanému čtenáři nemusí být například jasné, z jakých údajů vychází představa přednostní sekvence pro transformaci myosinu a proč nemůže být např. isoforma 2a nahrazena přímo isoformou 2b (str. 6).

Ke kladům práce patří využití adekvátních metodických přístupů, včetně zvládnutí moderních molekulárně biologických metod. Jejich popis na 6 stranách je vcelku vyhovující, avšak v této formě disertace by, podle mého názoru, měly být podrobně popsány všechny použité metody (nestačí jen princip a odkaz na publikaci, která není součástí spisu: např. měření koncentrace tyroidních hormonů v séru nebo aktivity jaterní GPDH, str. 14). Také technika transplantace svalu by si zasloužila podrobnější popis. Obrázek 2 není příliš instruktivní (naznačuje, že svaly byly transplantovány do obou končetin, zatímco z textu výsledkové části vyplývá, že sval byl vždy transplantován jen do EDL levé končetiny hostitele – proto jsou EDL označeny jako hostitelské a kontralaterální).

Rozsahem největší část spisu tvoří popis výsledků. Tato část je v zásadě dobře uspořádaná, výsledky jsou, až na výjimky, presentovány jasnou formou a dokumentace je přehledná a názorná. Mé připomínky a upřesňující dotazy jsou uvedeny na konci posudku. Diskuse je stručná a fundovaná; autorka si je vědoma jistých interpretačních nejasností a přistupuje k hodnocení svých výsledků s potřebným kritickým nadhledem. Z porovnání konciseně formulovaných závěrů práce s cíly, uvedenými na konci literárního přehledu, je zřejmé, že všechny cíle byly splněny.

Po formální stránce je spis zpracován pečlivě a sepsán vcelku jasně a srozumitelně. Drobné překlepy a nepřesnosti se objevují jen ojediněle (např. v seznamu zkratk je pro *thyroid responsive elements* uvedena místo TRE zkratka TRH, která je obvykle rezervovaná pro *thyrotropin releasing hormone*; správný název pracoviště, kde autorka pracovala, není Česká akademie věd – str. 9; místo *embryonálně* by mělo být *embryonálně* – str. 2).


K výsledkům práce a jejich prezentaci mám následující připomínky a dotazy, které však nejsou zásadního charakteru a nesnižují mé celkově kladné hodnocení.

- 1) Změny v expresi MyHC jsou vyjádřeny jednak v závislosti na věku (tedy pro oddělené skupiny 2-, 4- a 7-měsíčních zvířat) a jednak způsobem, který věk nerespektuje. Chápu snahu autorky zjednodušit prezentaci těch výsledků, které byly na věku relativně nezávislé (nebo kde počet měření v jednotlivých věkových skupinách byl malý), ale v některých případech je toto zjednodušení nepřijatelné. Např. zastoupení isoformu proteinu bylo závislé na věku a změněný thyroïdní stav je systematicky ovlivňoval opačným směrem. Tabulka 6a a obrázek 8ac, které ukazují průměrné hodnoty ze všech věkových skupin, tedy zakrývají důležité vývojové trendy a jejich výpovědní hodnota je nulová. Totéž platí pro prezentaci hodnot sérové koncentrace T_3 a T_4 a hmotnostních parametrů. Jaký smysl má uvádět tyto parametry, měřené v tak širokém věkovém rozmezí, jako jedinou hodnotu pro průměrný věk (např. pro hypothyroidní zvířata stará $19,3 \pm 8,9$ týdnů)?
- 2) V textu na str. 17 je uvedeno, že hmotnosti svalů nebyly ovlivněny změněným thyroïdním stavem, ale z tabulky 3 plyne, že relativní hmotnost SOL byla u hypothyroidní skupiny významně snižena.
- 3) V obrázku 5 by měla být uvedena nanáška proteinu, jinak je porovnání proužků MyHC 1 mezi 2. a 3. sloupcem matoucí.
- 4) Z porovnání 2-měsíčních skupin potkanů vyplývá, že jak hypothyreosa, tak hyperthyreosa zvýšily zastoupení MyHC 1 oproti euthyroidnímu stavu. Jaké je vysvětlení tohoto nálezu vzhledem k normálnímu vývoji do 2. měsíce věku? Jestliže vliv hyperthyreosy v této věkové skupině je v diskusi vysvětlován urychlením diferenciací, proč se neprojeví naopak zpomalení diferenciací u hypothyroidní skupiny (tj. pokles MyHC 1 oproti euthyroidním zvířatům)? Nemůže tu hrát roli odlišné období vývoje, kdy byly zahájeny intervence k navození hypothyroidního (již prenatálně) a hyperthyroidního (až po 30 dnech postnatálně) stavu?
- 5) SOL 2-měsíčních hypothyroidních potkanů obsahoval 11% a 4-měsíčních ještě 5% MyHC 2a, ale přitom neexprimoval příslušnou mRNA. Jestliže normální poločas isoformu MyHC je 2 – 3 týdny, jak lze tento výsledek vysvětlit?
- 6) Není jasné, proč byly svaly v transplantační studii analyzovány v tak širokém rozmezí věku (6 – 18 měsíců, tj. 4 – 16 měsíců po transplantaci). Skutečně se fenotyp svalů v tomto rozmezí nemění?

Závěr:

Oponovaná práce přináší nové poznatky, které rozšiřují současné znalosti o regulačním působení thyroïdních hormonů na expresi těžkých řetězců myosinu v pomalých a rychlých kosterních svalech. Autorka prokázala, že ovládá vědecké metody, má potřebné teoretické vědomosti a je schopna samostatné výzkumné činnosti. Domnívám se, že disertace splňuje požadavky stanovené zákonem, a proto ji doporučuji přijmout k obhajobě a RNDr. Adrianě Vádászové-Soukup udělit titul Ph.D.

V Praze, 10. 1. 2006



Doc. RNDr. František Kolář, CSc.
Fyziologický ústav AV ČR