

Oponentský posudek na doktorskou dizertační práci Mgr. Hany Luksanové : "Vliv volných radikálů na stárnutí".

Oponent: RNDr. Ivana Macháčková, CSc.

Cílem předložené práce bylo prokázat, zda nejčastěji přijímaná teorie stárnutí navržená Harmanem a založená na působení volných radikálů, je obecně platná. Tato teorie je považována za platnou u živočichů, ale nebyla dostatečně studována u rostlin. Autorka zvolila – dodala bych, že velmi vhodně, 3 rostlinné modely s různou modifikací procesu stárnutí a jako další model kvasinky.

Práce je klasicky členěna na část teoretickou, materiál a metody, výsledky, diskuzi, závěr a seznam použité literatury. Navíc je zde zařazena kapitola Vybrané biologické modely, která je vhodným doplnkem vysvětlujícím specifitu a vhodnost vybraných modelových rostlin a kvasinek. V teoretické části podává autorka dobrý přehled dosavadních znalostí mechanismů stárnutí, vypracovaných zejména na modelech živočišných. Nejpodrobněji popisuje teorii Harmanovu, která předpokládá, že hlavní příčinou stárnutí je hromadění volných radikálů - reaktivních forem kyslíku a dusíku - a produktu jejich působení. Jedna z nejvýraznějších reakcí volných radikálů je tvorba lipofuscinoidních pigmentů, jejichž analýza umožňuje sledovat průběh stárnutí. Mimo to jsou indukovány i obranné mechanismy – i těmi se pak autorka u jednoho z modelů detailně zabývala. V kapitole Vybrané biologické modely vysvětluje důvody, proč si vybrala pro své studium 3 rostlinné modely: dělohy fazolu, listy tabáku s modifikovaným metabolismem cytokininů – hormonu známého svým vlivem na stárnutí a rekombinantní inbrední linie Arabidopsis s různou rychlostí stárnutí. Jako čtvrtý model si pak vybrala kvasinky nesoucí onkogen Ras. Vzhledem k důležitosti regulace procesu stárnutí u rostlin cytokinininy by si tato oblast zasloužila poněkud detailnější popis. I situace u kvasinek je popsána až příliš stručně.

Materiál a metody jsou popsány dostatečně detailně a přesně. Autorka musela zvládnout řadu metodických přístupů: fyzikálně-chemické, řadu chromatografických technik, biochemické analýzy (enzymové testy) a analýzu hladin ochranných látek. V popisu metod však na některých místech chybí citace prací, ze kterých se vycházelo (nebo jsou nevhodně uvedeny přímo v názvu podkapitoly).

Získané výsledky popisuje autorka jasně a výstižně a jsou bohatě dokumentovány grafickým materiálem velmi dobré kvality a vypovídací hodnoty. Ráda bych se zeptala, proč obr. 81 a 82 jsou v černobíle verzi, když všechny ostatní jsou barevné (to ale nic neubírá na jejich správnosti). Autorka získala řadu velmi zajímavých a cenných výsledků, které prokázaly, že Harmanova teorie

není u studovaných modelů zcela platná. V mechanismu stárnutí studovaných modelů se sice účastní volné radikály, ale byly zjištěny jevy, které jsou s Harmanovou teorií v rozporu. Zdá se, že cytokininy, které stárnutí oddalují, působí přímo na tvorbu lipofuscinových pigmentů a zabránějí kumulaci nitrotyrozinu. Jejich působení evidentně není dáno jen jejich antioxidantními vlastnostmi a je komplexní. Při studiu byly pozorovány i rozdíly mezi kultivary jedné rostliny, což znamená, že stárnutí podléhá kontrole i dalších faktorů. U kvasinek nedochází vůbec ke kumulaci produktu oxidací lipidů a proteinů – příčina stárnutí je tedy jiná. V kapitole výsledky jsou na začátku některých podkapitol opakovány cíle a popis modelu. To považuji za nadbytečné. Chápu, že autorka se snažila takto zvýšit srozumitelnost textu, protože její sledování byla opravdu komplexní a týkala se mnoha různých parametrů. Pokud z tohoto důvodu tyto popisy zařadila, pak ale musí u nich být uvedeny i citace, a ty často chybí.

Diskuze je napsána přehledně a jasně zasazuje získané poznatky do kontextu dosavadních znalostí. V souvislosti s argumentací, že stárnutí listů tabáku je provázáno poklesem syntézy rozpustných proteinů a že cytokininy nemají na tento proces vliv, bych se chtěla zeptat, zda autorka uvážila možnost, že se jedná o zvýšení degradace a ne o snížení syntézy. Mytinová et al. (2006) popsali, že typ rostliny s CKX stárne pomaleji než kontrola, ale v práci není uvedeno, jak to autoři zmíněné práce vysvětlili. Na str. 131 popisuje autorka rozpor ve svých výsledcích změň hladiny tokoferolu s výsledky Dertinger et al., ale nepokouší se o žádné vysvětlení tohoto rozporu. Existuje nějaké možné vysvětlení? Na str. 130 píše autorka, že metabolismus nerozpustných proteinů je ovlivněn působením nespecifických genů. Co tím má na mysli?

Závěry jsou napsány jasně a nelze jim nic vytknout.

To, co bylo dosud řečeno, jasně ukazuje, že Mgr. Lukšanová prokázala schopnost vědecky pracovat: dobrou znalost literatury ve studovaném oboru a schopnost osvojit si potřebné metody. Dosáhla velmi zajímavých výsledků obohacujících naše znalosti o procesu stárnutí a své výsledky zasadila do kontextu dosavadních znalostí.

Navzdory velmi dobře grafické úpravě mám poměrně dost poznámek k formální stránce práce. Zprv je nedostatečně vysvětlen rozdíl mezi termíny stárnutí a senescence a rozlišení není důsledně používáno. V práci je celá řada překlepů, nevhodných formulací a výrazů (asi nejvíce mne iritoval výraz senescující). Také není vhodné u česky psané práce užívat zkratky anglických ekvivalentů (např. f.m., d.m.). Všechny poznámky jsem napsala přímo do textu práce. Je škoda, že formální stránce (myslím tím jazykovou stránku) nebyla věnována větší pozornost (tuto poznámku bych si dovolila vztáhnout i na školitele).

Ve výčtu literatury chybí několik citací uvedených v textu: Lee et al. 1993 (s.13), Rio et al. 1998 a Rio et al. 2002 (s. 15), Merzlyak et al. 1989 (s.25), Wilhelm et al. 1995 (s. 29) a Nakono et al. 1980 (s. 52). Citace 116 a 117 jsou totožné.

Před závěrem ještě pár poznámek k autoreferátu. Je napsán dobře a vystihuje přínos práce. Ale ani zde nebyla věnována dostatečná pozornost jazykové stránce.

Závěr: Moje poznámky k formální (jazykové) úrovni nechtějí snížit vědecký přínos předložené dizertace. Ten je nezpochybnitelný a Mgr. Luksánová dostatečně prokázala schopnost vědecky pracovat. Proto doporučuji předloženou dizertaci k obhajobě a po úspěšné obhajobě doporučuji udělení titulu PhD.

Aarhus, 16. června 2007

RNDr. Ivana Machácková, CSc.