

## Oponentský posudek disertační práce MUDr. Martina Vejražky

### "Úloha NAD(P)H oxidasy v signální transdukcii"

Předložená disertační práce má 96 stran, 1 tabulku, 20 obrázků a 272 recentních citací. Disertační práce byla vypracována na Ústavu lékařské biochemie 1. LF UK v Praze.

Práce je rozdělena do úvodních částí, kde disertant popisuje problematiku metabolismu volných radikálů, jejich vznik, strukturu a systémy antioxidační ochrany organismu. Podrobně se zabývá peroxiredoxinům, které patří k hlavním systémům eliminující peroxid vodíku a podílejících se na signální transdukcii. Další část úvodních kapitol je zaměřena na vztah volných radikálů a signální transdukcii a na genovou expresi.

Podrobně jsou popsány jednotlivé NAD(P)H oxidasy, jejich strukturní části, jako jeden z nejvýznamnějších zdrojů ROS v buňce, a zejména mechanismy aktivace cévní NADPH oxidasy včetně vazby k NO. V závěru úvodních kapitol disertant se věnuje vztahu NADPH oxidasy v patogenezi onemocnění zejména hypertenzí a typům polymorfismu genu CYBA ve vztahu k hypertenzi a dalším kardiovaskulárním nemocem.

Cíle práce jsou formulovány přesně – jsou celkem čtyři – metodické, pospání rozdílů mezi normotenzními a hypertenzními jedinci, změn regulace NADPH oxidasy u normotenzních a hypertenzních jedinců a dále vlivu apocyninu na produkci ROS.

V metodické části disertant popisuje metodiky, které zavedl v rámci doktorského studia. Jedná se o problematiku studia na buněčných kulturách fibroblastů a svalových buněk aorty potkana, kultivace endotelií, izolaci leukocytů z periferní krve a izolaci plazmatických membrán z kultivovaných buněk.

V další části jsou popsány metodiky měření produkce ROS prostřednictvím DCFH (fluorescenční sonda) a tvorbu superoxidu pomocí WST-1 (tetrazoliové barvivo).

V této části disertant prokázal schopnost zavést a účinně aplikovat široké spektrum metodik z oblasti biochemie

Stěžejní část práce jsou výsledky a diskuse, kdy autor kriticky hodnotí své výsledky v kontextu současných prací. Tato část je rozdělena na tři celky – aktivita NADPH oxidasy ve fibroblastech aorty a účinek angiotensinu II. Druhá rozsáhlá část popisuje účinky apocyninu na produkci ROS fagocytárními a nefagocytárními buňkami a poslední část se věnuje kyselině močové a jejímu vztahu na aktivitu cévní oxidasy.

Výsledky mnohaleté práce formulované ve čtyřech široce položených otázkách jsou shrnuty v 9 závěrech. Disertant popsal vyšší aktivitu NADP a NADPH oxidasy v kultivovaných fibroblastech aorty u SHR potkanů a též zde byla větší stimulace angiotensinem II. Apocynin stimuluje produkci ROS zejména superoxidu a inhibice fagocytární NADPH oxidasy je dána metabolitem apocyninu v přítomnosti peroxidu vodíku a peroxidázové aktivity. Apocynin rozdílně účinkuje při vzniku ROS ve fagocytárních a nefagocytárních buňkách. Kyselina močová ovlivňuje tvorbu superoxidu NADPH oxidasou v hladkých svalových buňkách cévní stěny.

K disertantu mám několik připomínek a dotazů:

1/ Pro přehlednost by bylo vhodné volit desetinné třídění.

2/ V části ovlivnění genové exprese by mohly být jednotlivé systémy pospány podrobněji např. PPARs, i když beru v úvahu, že nejsou předmětem disertace.

3/ Byl popsán vztah thioredoxinu 1 jeho polymorfismu ve vztahu k dlouhověkosti u člověka či primátů ?

4/ Jaká je známá úloha NADPH oxidázy v jiných systémech člověka než v kardiovaskulárním systému ?

Závěrem lze hodnotit, že dizertace se zabývá aktuální problematikou základního výzkumu s významným vztahem ke klinické medicíně jako je studium mechanismů působících při arteriální hypertenzi. Je třeba vyzdvihnout, že v celé práci autor správně užívá chemické názvosloví enzymů.

Na práci vysoce hodnotím nejen zvládnutí celé šíře laboratorních technik, ale též velmi originální přístupy k řešení položených otázek. Práce přinesla prioritní poznání a její části byly publikovány v prestižních zahraničních časopisech.

Na základě výše uvedených skutečností lze konstatovat, že MUDr. Martin Vejražka prokázal schopnost samostatné vědecké práce. Doporučuji proto, aby na základě úspěšné obhajoby doktorandské disertační práce mu byl udělen titul PhD.

Praha, 27. srpna 2007



prof. MUDr. Tomáš Zima, DrSc.  
přednosta Ústavu klinické biochemie  
a laboratorní diagnostiky 1. LF UK a VFN  
Praha