

## Posudek na diplomovou práci

**Název diplomové práce:** *Diferenciace typů svalových vláken a exprese těžkých řetězců myosinu v kosterních svalech potkana. ....*

**Autor:** Bc. Ondřej PŘENOSIL

**Vedoucí diplomové práce:** RNDr. Jitka Žurmanová, PhD.  
Katedra fyziologie živočichů,  
Přírodovědecká fakulta UK

**Konsultant :** RNDr. Tomáš Soukup, CSc.  
Odd. Funkční morfologie  
Fyziologický ústav AV ČR

*Předložená studie má celkem 86 stran včetně literatury; obsahuje dále čtyři přílohy – příloha 1: vliv hladiny tyroidních hormonů na transposici isoformů těžkých řetězců myosinu, příloha 2-4: použité chemikálie a roztoky .*

*Vlastní text práce tvoří několik oddílů:*

*Úvod:*

Je věnován popisu vláken v kosterní svalovině u dospělého potkana především ve vztahu ke složení myosinu a remodelaci této bílkoviny jak pod vlivem působení trijodtyroninu tak pod vlivem nedostatku tohoto hormonu.

*Cíle práce: J*

Jsou stanoveny čtyři úkoly, které by měly být v diplomové práci analyzovány: kvantifikace změn svalových vláken v závislosti na stupni postnatálního vývoje, dále změny tyroidním stavem organismu, analyzovat případné změny mezi pravou a levou končetinou u stejného jedince a porovnat pohlavní změny.

*Seznam zkratk - 2 stránky (recensent se však domnívá, že pokud se určitý termín nevyskytuje v práci mnohokrát, je lépe zkratky nepoužívat)*

*Literární přehled:*

Přináší podrobný popis struktury myosinu tak, jak se vyskytuje v rámci u mnoha známých živočichů, ale i u rostlin. Přináší poznatky, které se týkají jak těžkých tak lehkých řetězců myosinu. Popis struktury této bílkoviny je obtížný: v řadě učebnic se vyskytuje pojem HMM a LMM (= těžké a lehké meromyosiny) + lehké řetězce, v dnešní době převažuje terminologie HC a LC (= lehké a těžké řetězce). Tuto poznámku zde píše protože v popisu na str. 11/12 autor diplomové práce použil obě terminologie a mohlo by to čtenáře, který není zblhlý v této terminologii,

vést k určitým nejasnostem. Podobně je to i v popisu k obr. 1 – str 12 (který je převzat z Lodishe) - head chains je vše tedy jak -head, neck tak i tail - tak, jak je to označeno zde to přibližně odpovídá LMM, podobně nechápu kde jsou zvýrazněna vazebná místa pro ATP a aktin (předpokládám, že v originálu to bylo jasné, zde to však už tak jasné není).

Autor této studie dále věnuje pozornost typům svalových vláken, možnému histochemickému barvení a možnosti použití elektroforetických přístupů; jsou zde dále i diskutovány možné mechanismy „tranzice“ svalových vláken (nevím, zda je možno plně souhlasit s tvrzením, že ....“ vnější vlivy působí pouze v mantinelech vytyčených genetickými možnostmi...” – viz str 17).

Velmi důležitá je kapitola která se věnuje popisu možných molekulárních mechanismů tranzice svalových vláken – přináší zcela nové pohledy na tuto problematiku; v budoucnu by bylo možné případně tyto faktory uvažovat při fyziologické i patofyziologické remodelaci struktury myosinu (např. podílu HC a LC či zastoupení různých isoform HC).

Další část literárního přehledu popisuje pre- a postnatální vývoj různých kosterních svalů u potkana a vliv intervace a nervosvalové aktivity či mechanického zatížení na vytvoření příslušného svalového fenotypu. Autor této diplomové práce ukazuje dále, že existuje řada údajů o možných změnách navozených různými hormony (největší pozornost je věnována vlivu thyroidních hormonů), které, spolu s vlivem pohlavních hormonů, podmiňují odlišné reakce samců a samic.

#### *Metodiky:*

Tato kapitola přináší popis experimentálních skupin potkanů, navození hypo- a hyperthyroidního stavu, odběry vzorků a jednotlivé immuohistochemické a elektroforetické přístupy. Kapitulu doplňují poznámky ke statistickému hodnocení získaných dat.

#### *Výsledky*

V první části jsou analysovány *postnatální změny a míra koeexprese* (mezi 2-6 týdnem a dále změny až u zvířat starším než 39. týden).

Dále zastoupení pomalých a rychlých vláken a míra koeexprese *v závislosti na thyroidním stavu organismu* v dvou typech svalu (SOL a EDL)

V práci jsou ještě řešeny otázky týkající se zastoupení pomalých a rychlých vláken a míra koeexprese *v závislosti na lateralitě končetiny* a stejné parametry *v závislosti na pohlaví*

Zastoupení *různých isoform HC myosinu* je provedeno pomocí SDS – PAGE; autor práce ilustruje *vliv thyroidních hormonů* na zastoupení pomalých a rychlých vláken v SOL a EDL *pomocí histochemické detekce*



## Diskuse

Na základě získaných výsledků jsou potom jednotlivé nálezy dávány do širších souvislostí; autor se zde ani nevyhýbá tomu, aby kriticky hodnotil různé přístupy k řešené problematice a odpovídá na předem položené cíle práce

## Závěry

Ve čtyřech bodech autor diplomové práce stručně a jasně shrnuje získané výsledky získané v rámci této diplomové práce a hodnotí vliv působení tyroidních hormonů.

## Závěrečné hodnocení přeložené studie

Z výše uvedeného je zřejmé, že se jedná o diplomovou práci, která *komplexně* (morfologicky, biochemicky i fyziologicky) *objasňuje vliv tyroidních hormonů na strukturu a biochemické složení myosinu v různých typech kosterní svaloviny*. Hodnotím pozitivně úvodní obecné poznatky (uvedené v literárním přehledu) týkající se remodelace myosinu, navozené hypo- a hypetyroidním stavem organismu.

Autor práce však dále prokázal, že ovládl *řadu metodických přístupů* k řešení svalové fyziologie a biochemie, získané výsledky statisticky hodnotí a dává je do širšího biologického kontextu.

**Předložená diplomová studie proto jednoznačně splňuje veškeré nároky, které jsou na tuto práci kladené: řeší navíc biomedicinálně závažný problém** – vliv hormonů na kosterní svalovinu, všímá si vývojových aspektů i pohlavních rozdílů.

V práci jsou použity vhodné metodické postupy, získané výsledky jsou řazeny do širšího kontextu a řádně diskutovány.

*Na základě všech výše uvedených skutečností lze proto **doporučit**, aby předložená studie byla přijata a následně obhájena v rámci veřejného řízení; po jejím úspěšném ukončení*

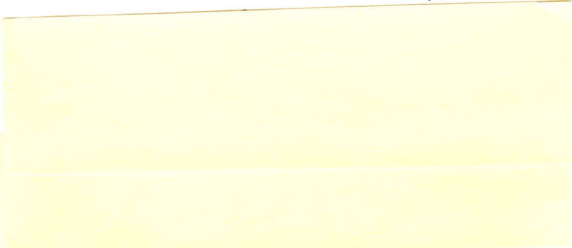
***navrhují aby byl, podle příslušných zákonů, udělen Bc. O. Přenosilovi příslušný titul.***

**Navrhují,** aby v rámci obhajoby byly diskutovány **následující otázky:**

*K práci nemám žádné závažné připomínky, uvedené otázky jsou položeny proto, aby autor této práce mohl ukázat, že umí i diskutovat otázky, které nejsou přímo v této studii řešeny:*

- 1) Jak si autor diplomové práce představuje to, co popisuje na str. 11 – ....homodimerní multiproteinové komplexy, kde každý monomer je heterodimerem ...?
- 2) Úloha lehkých řetězců myosinu - autor uvádí pouze možnost - vazebný protein pro Ca – ionty, jak je to s případnou fosforylací LC2
- 3) degradace myosinu - jsou k dispozici nějaké údaje o odlišné degradaci HC a LC, v jakém časové intervalu toto probíhá?

Praha, 12/5/2008



Prof. RNDr. Václav Pelouch, CSc.  
Ústav lékařské chemie a biochemie  
UK – 2.LF, Praha 5 - Motol