



UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE
1. LÉKAŘSKÁ FAKULTA
ÚSTAV PATOLOGICKÉ FYZIOLOGIE
12853 PRAHA 2, U Nemocnice 5
Přednosta: Doc. MUDr. Martin Vokurka, CSc.

Posudek na dizertační práci RNDr. Kamily Balušíkové

„Molecular Mechanisms of Iron Transport across Plasma Membrane in Mammalian Cells“

RNDr. Kamila Balušíková předkládá v rámci své dizertace ucelený soubor čtyř experimentálních prací doplněný teoretickým úvodem, v závěru práce jsou přiloženy informace o právě probíhajících projektech.

Téma práce je v kontextu metabolismu železa aktuální a práce splňuje standardní nároky kladené na dizertační práci.

Přínosem práce je především to, že se zabývá důležitým námětem. Vstup netransferrinového železa do buněk je zásadní z hlediska toxicity železa při transfuzním přetížení železem, a identifikace molekul podílejících se na tomto procesu může mít značný praktický význam. Vyzdvihnout je třeba i závěr, že transportní molekuly je nutné studovat jak na úrovni mRNA, tak i na úrovni proteinů technikou imunoblotu. Řada molekul podílejících se na metabolismu železa se totiž vyznačuje posttranskripční regulací, a právě rozvíjení techniky imunoblotu poskytuje předpoklady pro získání dalších zajímavých výsledků u vzorků pacientů s hemochromatózou, anémií a jaterním poškozením.

Drobným nedostatkem práce jsou některé ne zcela jasné anglické formulace v teoretické části – například na stránce 20 je transferrinový receptor 2 označen jako plasmatický protein a na stránce 14 je myoglobin rovněž uveden jako plasmatický protein.

Z dnešního hlediska by navíc asi bylo možno částečně polemizovat i se závěrem první předkládané publikované práce (Kovář et al, 2006). Autoři nenalezli změny v obsahu proteinu DMT1 v buňkách K562 a usuzují, že vzhledem k nezměněnému obsahu DMT1 se na vstupu železa se zřejmě podílejí i jiné proteiny. Použitá protilátka však pravděpodobně nedetekuje isoformu DMT1 přítomnou v erytroidních prekurzorech, takže výsledky studie týkající se DMT1 lze jen těžko interpretovat.

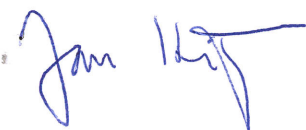
Na druhé straně je možno jen souhlasit se závěrem, že transport železa přes plasmatickou membránu je regulován mechanismy specifickými pro konkrétní buněčnou linii. Na právě proběhlém kongresu Bioiron 2015 bylo ukázáno, že vstup železa do hepatocytu, kardiomyocytu a beta buněk pankreatu se liší v závislosti na přítomnosti proteinů ZIP14 nebo DMT1. Autorka by se v dalších experimentech měla pokusit i o kvantifikaci ZIP14, neboť je zřejmé, že tento protein hraje v transportu železa důležitou roli. Lze doporučit i vypracování metody pro přímé stanovení železa v buňkách inkubovaných v médiu s přísadkou citrátu železitého – tento údaj v publikacích není uveden.

Z informací o probíhajících projektech je zřejmé, že kombinace dobře zavedených experimentálních metodik s dostupností vzorků získaných od pacientů s poruchami metabolismu železa má zjevný potenciál pro další výzkum – prioritním cílem by mohl být například pokus o identifikaci dosud stále

jednoznačně nepopsané transportní molekuly pro hem v enterocyty. Pokusy na buněčné linii H9c2 by mohly pomoci objasnit mechanismus poškození myokardu při opakovaných transfuzích.

Z předložené práce vyplývá, že autorka má dostatečné teoretické znalosti v oboru, a že prokázala dostatečné tvůrčí schopnosti pro další řešení problematiky. Práce splňuje standardní požadavky na dizertační práci a proto ji doporučuji k obhajobě.

Praha 15.9.2015



Ing. Jan Krijt, PhD

Univerzita Karlova v Praze
1. lékařská fakulta
Ústav patologické fyziologie
128 53 Praha 2