

Oponentský posudek diplomové práce Petry Arnoštové:

Identifikace a klasifikace těžkých řetězců myosinu v srdci samců a samic potkana pod vlivem tyroidních hormonů.

Předložená diplomová práce Petry Arnoštové byla vypracována na Katedře fyziologie živočichů Přírodovědecké fakulty UK a zabývá se vlivem tyroidního stavu (hypo- a hypertyreózy) na zastoupení α a β izoformem těžkých řetězců myosinu (MyHC) v myokardu samců a samic laboratorního potkana. Významnou část práce tvořilo zavedení a ověření metodik pro kvantifikaci studovaných izoformů MyHC. Vlastní spis má 85 stran (seznam použité literatury obsahuje 214 položek) a je členěn do obvyklých kapitol.

Literární přehled tvoří 21 str. a 5 str. příloh. Úvodní dvě kapitoly (I. a II.) se zabývají charakteristikou MyHC, jejich zastoupení v myokardu různých savčích druhů a jejich změnami v ontogenetickém vývoji. Kapitola III. pak podrobně analyzuje faktory ovlivňující expresi MyHC. Podstatná část této kapitoly je věnována úloze tyroidních hormonů (TH), kterými se autorka zabývala ve své experimentální práci. Autorka detailně seznamuje čtenáře s mnoha aktuálními poznatky o biogenezi TH, jejich receptorech a metabolismu, včetně signálních drah TH aktivovanými. Kapitola zabývající se působením TH na funkci srdce za patofyziologických podmínek hypo- a hyperthyreózy (kap. 3.1.2.), společně s následujícími kapitolami o vlivu dalších patofyziologických faktorů (tlakové a objemové přetížení, stárnutí), prokazuje široký záběr prezentovaného přehledu. Závěrečná část je pak věnována vlivu pohlaví na expresi srdečních MyHC.

Celkově považuji literární přehled diplomové práce za velmi zdařilý, byť se v něm dají najít drobné formulační nepřesnosti či pochybení. Jako příklady uvádím: i) na str. 14 autorka píše o velmi krátkém poločase rozpadu T3 u potkanů (7 h), což je však ve vztahu např. ke katecholaminům poločas velmi dlouhý. ii) Ne zcela bych souhlasil s tvrzením na str. 21, že „...hypertrofie vyvolaná nadbytkem T3 je zcela reversibilní s návratem do eutyroidního stavu“. Dle mého názoru dochází k normalizaci hmotnosti komor, nicméně kvalita myokardu (především biochemické složení) zůstává významně ovlivněno předchozím hypertrofickým stavem. iii) Na str. 26 je tvrzení: „Při hypertenzi vzrůstá hladina Ang II a endotelinu-1“, v tomto případě byl zaměněn důsledek za příčinu. Zdůrazňuji však, že výše uvedené připomínky nemají podstatný vliv na jinak vysoce pozitivní hodnocení literárního přehledu.

Použité metodiky jsou popsány adekvátním způsobem a dostatečně podrobně (7 str. textu + 5 str. příloh). Poslední věta kapitoly 6.2.1. „Po zákroku byli jedinci usmrceni letální dávkou anestetik“ (str. 32) je zavádějící, vzhledem k tomu, že k usmrcení zvířat došlo již při odebrání myokardu.

Výsledková část (7 str.) je přehledně zpracována a dokumentována. Za zásadní považuji nález odlišné pozice obou izoformů MyHC na akrylamidovém gelu, vyšší mobilita α izoformy, který byl dále autorkou ověřen pomocí hmotnostní spektrometrie. Věřím, že se tento zásadní objev podaří v nejbližší době autorům publikovat. Jako fyziolog jsem v práci postrádal bližší charakteristiku vlivu tyroidního stavu na myokard, tedy základní hmotnostní parametry, ať již celkové či relativní. Prosím, můžete se k tomu vyjádřit v rámci své obhajoby?

Experimentálně získané poznatky jsou konfrontovány s literárními údaji v diskusi (3 str.), které by, i vzhledem ke kvalitě a rozsahu literárního přehledu, slušel hlubší záběr (např. se nabízí obecná diskuse pohlavích rozdílů v myokardu samců a samic). Upozornil bych na drobnou nepřesnost v textu na str. 46, kde autorka interpretuje studii Larssona et al. (1994), ve které „...několik zvířat během pokusu uhynulo na tachykardii nebo srdeční arytmii.“ Tachykardie je jedním z typů srdečních arytmií, proto výše zmíněná věta může působit zavádějícím dojmem.

Dovolil bych si ještě položit další dvě otázky:

1. V kapitole je popisováno zastoupení jednotlivých izoforem MyHC v myokardu různých savců. Jak se liší spektrum izoforem MyHC u jiných živočišných tříd (ptáci, plazi, ryby)?
2. V kapitole 3.1.2.2. se uvádí, že „... u chronicky hypertyroidních zvířat stoupá koncentrace angiotenzin konvertujícího enzymu, což vede ke zvýšené reabsorpci sodíku v ledvinách a následně je zvýšen celkový objem krve a plazmy: zvyšuje se koncentrace erythropoetinu (EPO) a roste počet erytrocytů.“ Můžete tuto skutečnost blíže vysvětlit? Jakým mechanismem při hypertyreoze dochází ke zvýšení produkce EPO?

Závěr:

Petra Arnoštová ve své diplomové práci prokazuje, že zvládla úskalí experimentální práce, dobře se seznámila s dostupnou odbornou literaturou a je schopna dosažené výsledky prezentovat a kriticky hodnotit. Domnívám se, že předložená práce splňuje požadavky kladené na diplomovou práci a doporučuji ji k obhajobě.

V Praze dne 22. 5. 2008



RNDr. Jan Neckář, Ph.D.