

Opravný lístek k diplomové práci:

Sukcinát dehydrogenáza jako senzor hypoxie v plicní cirkulaci

Katedra Fyziologie
Studijní obor: Fyziologie živočichů

Autor práce: Bc. Václav Tichý
Vedoucí práce: prof. RNDr. Václav Hampl, DrSc.
Oponent: doc. RNDr. Jitka Žurmanová, Ph.D.

1. Tabulka 2

	1	2	3	4	5	6	průměr	SD (s)
báze	6,28	6,35	6,42	6,64	10,78	6,21	7,11	1,64
hypoxie	13,58	13,51	10,25	10,87	16,79	16,87	13,65	2,57
báze+M	5,94	7,64	6,84	6,21	9,61	5,97	7,04	1,29
hypoxie+M	13,56	16,60	12,88	12,71	14,98	16,22	14,49	1,55
reakce na hypoxii	7,30	7,16	3,83	4,23	6,01	10,66	6,53	2,27
reakce na hypoxii s malonátem	7,62	8,96	6,04	6,49	5,37	10,25	7,46	1,70
změna M	0,32	1,80	2,21	2,26	-0,64	-0,41	0,92	1,21

Tabulka 1 – Perfusní tlak a jeho změny v odpovědi na hypoxii před a po aplikaci malonátu. 1-6 – číslo pokusného potkana, báze – bazální hladina tlaku v plicnici v normoxii, hypoxie – maximum dosaženého tlaku v hypoxii, báze+M – bazální hladina v normoxii po podání malonátu, hypoxie+M maximum dosaženého tlaku v hypoxii po podání malonátu, reakce na hypoxii – rozdíl hypoxického a bazálního tlaku před podáním malonátu, reakce na hypoxii+M – rozdíl hypoxického a bazálního tlaku s malonátem, změna M – rozdíl odpovědí na hypoxii s malonátem a bez něj (vliv malonátu na reaktivitu plicního řečiště). Všechny hodnoty jsou v mmHg. Zaokrouhлено na dvě desetinná místa. SD – standardní odchylka

2. Hypoxia-Responsive Elements (str. 14, řádek 18 a 19)

Ten se váže na tzv. Hypoxia-Responsive Elements (HRE), které jsou přítomny v promotorech specifických genů, jejichž transkripci tím aktivuje (Forsythe et al., 1996).

3. Seznam zkratek

Seznam zkratek

- AKT/PKB – proteinkináza B (Protein Kinase B)
- ATP – adenosintrifosfát (Adenosine Triphosphate)
- CAC – citrus kyseliny citronové (Citric Acid Cycle)
- CaL – napětově ovládané Ca kanály typu L (L-Type Calcium Channels)
- CaSR – extracelulární receptor vápenatých iontů (Extracellular Calcium-Sensing Receptor)
- CHOPN – chronická obstrukční plicní nemoc (Chronic Obstructiv Pulmonary Disease)
- E2F3 – E2F transkripční faktor 3 (E2F Trascription Factor 3)
- EPR – elektronová paramagnetická resonance (Electron Paramagnetic Resonance)
- ETC – elektronový transportní řetězec (Electron Transport Chain)
- HIF – hypoxií indukovaný faktor (Hypoxia-Inducible Factor)
- HPLC – vysokovýkonná kapalinové chromatografie (High Performance Liquid Chromatography)
- HPV – hypoxická plicní vasokonstrikce (Hypoxic Pulmonary Vasoconstriction)
- HRE – elementy reagující na hypoxii (Hypoxia-Responsive Elements)
- Kv – napětově ovládané draslíkové kanály (Voltage Gated Potassium Channels)
- MDA – malonaldehyd (Malonaldehyde)
- miRNA – mikro RNA (Micro RNA)
- MLCK – kináza lehkého řetězce myosinu (Myosin Light Chain Kinase)
- MLCP – fosfatáza lehkého řetězce myosinu (Myosin Light Chain Phosphatase)
- NADPH – redukovaný nikotinamidadenindinukleotidfosfát (Reduced Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate)
- PAEC – buňky endotelu plicních arterií (Pulmonary Artery Endothelial Cell)
- PASMC – buňky hladkého svalu plicních arterií (Pulmonary Artery Smooth Muscle Cell)
- PDCD4 – protein programované buněčné smrti 4 (Programmed Cell Death Protein 4)
- PHD2 – prolyl hydroxylázová doména 2 (Prolyl Hydroxylase Domain 2)

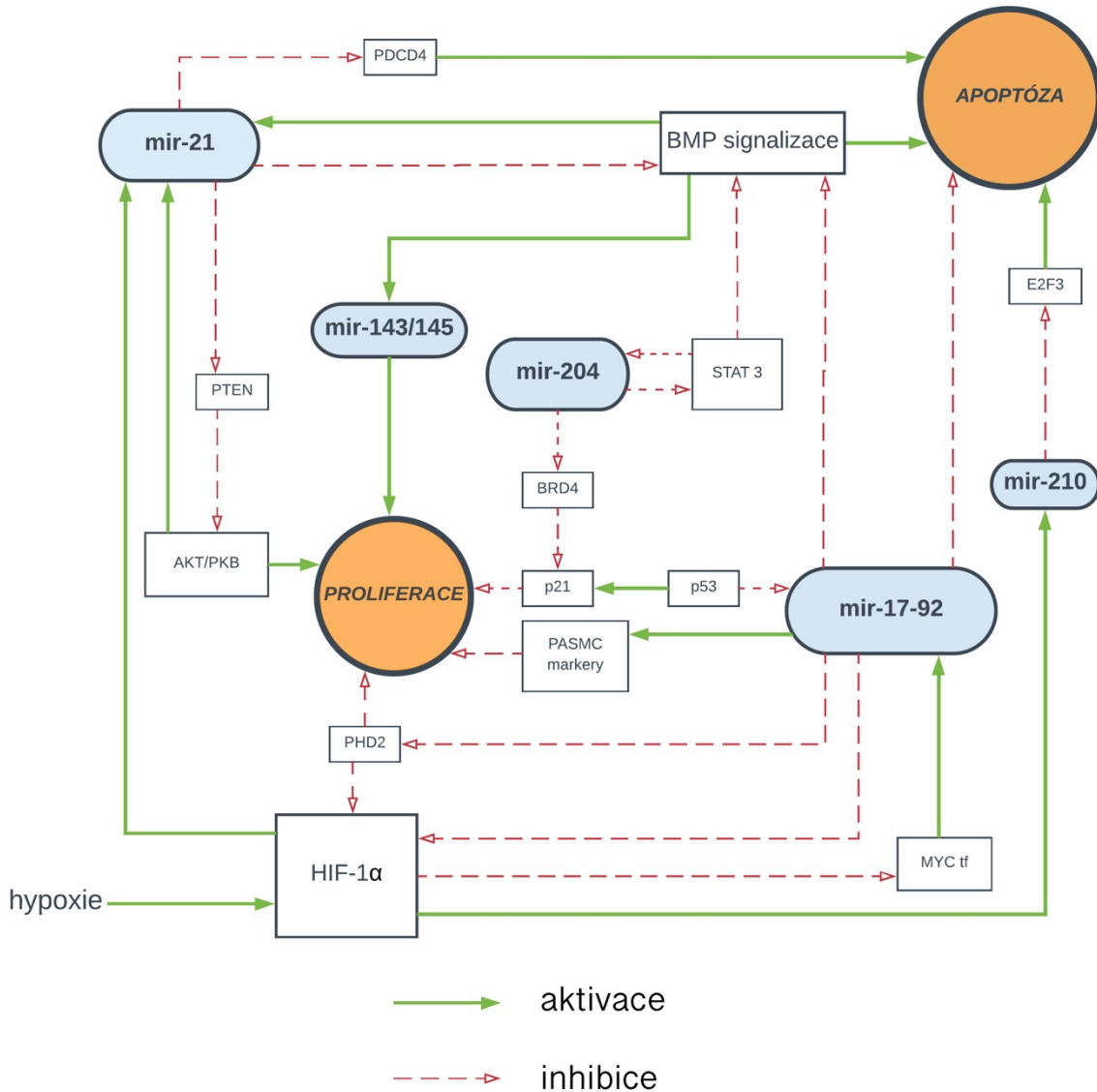
PTEN – fosfatázový a tenzní homolog (Phosphatase and Tensin Homolog)
PVR – odpor plicního cévního řečiště (Pulmonary Vascular Resistance)
ROCK – Rho-asociovaná protein kináza (Rho-associated protein kinase)
ROS – kyslíkové radikály (Reactive Oxygen Species)
SDH – sukcinát dehydrogenáza (Succinate Dehydrogenase)
SDHA, B, C, D – podjednotky sukcinát dehydrogenázy A, B, C, D (Succinate Dehydrogenase subunits A, B, C, D)
SOCE – kapacitativní vstup vápenatých iontů (Store-Operated Calcium Entry)
SOD – superoxid dismutáza (Superoxid Dismutase)
SR – sarkoplasmatické retikulum (Sarcoplasmic Reticulum)
TRPC – kanály přechodných receptorových potenciálů (Transient Receptor Potential Channels)
VEGF – vaskulární endoteliální růstový faktor (Vascular Endothelial Growth Factor)

4. Odkaz v textu na grafy (obrázky) 8 a 9

5.4 Krevní plyny

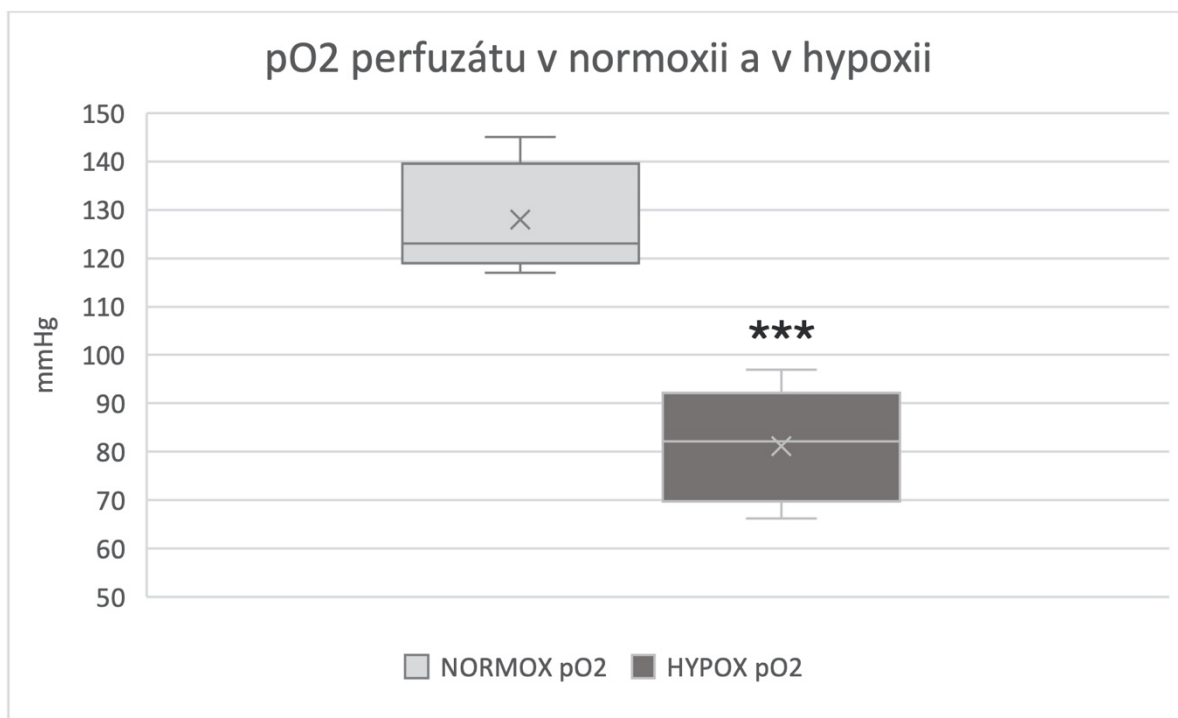
Během pokusů byly odebrány vzorky perfuzátu v hypoxii, v následné normoxii a po aplikaci malonátu za účelem stanovení hodnoty pH. Z výsledků je zřejmé, že pH nebylo významně změněno ani v hypoxii ani po podání malonátu (Obr. 8). Koncentrace kyslíku v hypoxické směsi byla mírně, ale signifikantně snížena (Obr. 9) a postačovala k dosažení relativně silné plicní vasokonstrikce.

5. Popisek obrázku 1.

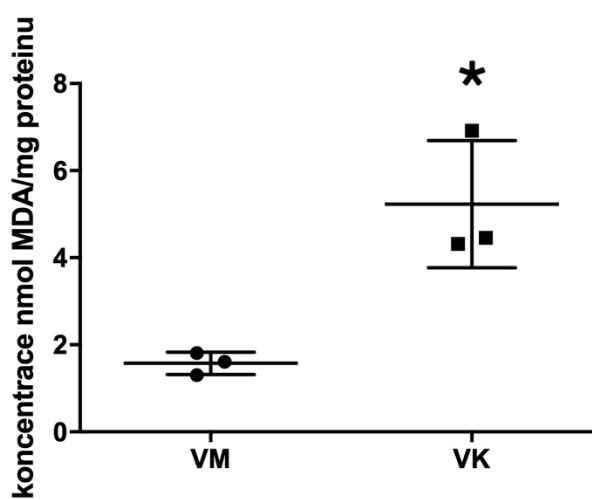


Obr. 1 – HIF-1 α Hypoxia inducible Factor 1 α ; PHD2 prolyl hydroxylázová doména 2; AKT/PKB proteinkináza B; PTEN fosfatázový PTEN protein (Phosphatase and Tensin homolog); BMP Bone morphogenetic protein; E2F3 transkripční faktor E2F3; PDCD4 protein programované buněčné smrti 4; PASC markers markery buněk hladké svaloviny plicních tepen; MYC tf transkripční faktor MYC; BRD4 protein obsahující bromodoménu (bromodomain containing protein 4); STAT3 Signal transducer and activator of transcription 3. Část signální sítě vznikající v reakci na chronickou hypoxii a propojující Hypoxia Inducible Factor (HIF) s různými mikroRNA, které podněcují proliferaci buňky především blokadí PHD2 a aktivací AKT/PKB signalizace skrze inhibici PTEN. Tyto dále blokují apoptózu inhibicí BMP dráhy a degradací transkripčních faktorů E2F3 a PDCD4. Jedná se o zjednodušené vizuální shrnutí mé bakalářské práce (dostupná na <https://is.cuni.cz/webapps/zzp/detail/186317/> v repozitáři závěrečných prací Univerzity Karlovy).

6. Vyznačení signifikance u grafů (obrázků) 9 a 11

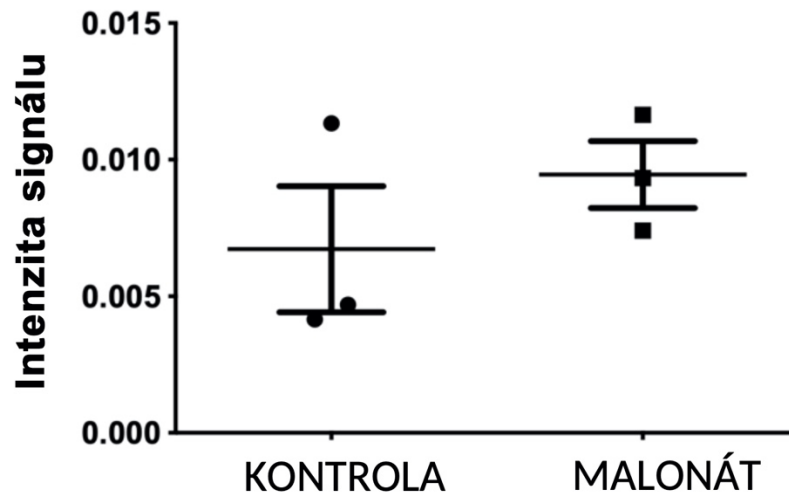


Obr. 1 – Změna parciálního tlaku O₂ vystavením plic hypoxii. SD je 11,4 a 12 mmHg; $p < 0.001$, $n=6$.



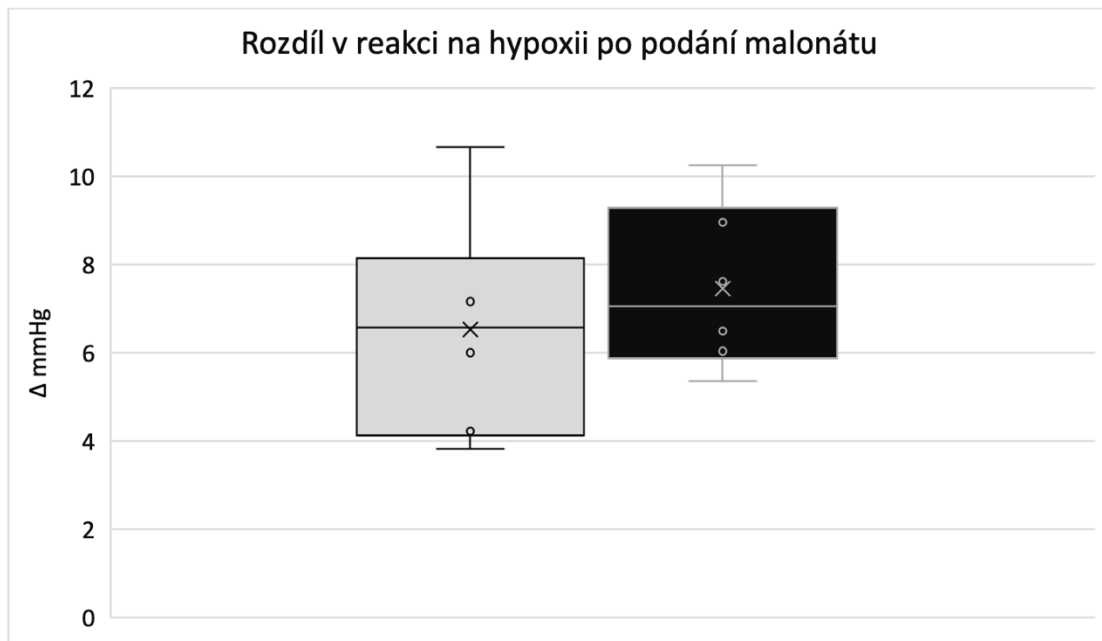
Obr. 2 - koncentrace MDA (malonaldehydu) v plicní tkáni s malonátem (VM) a bez malonátu (VK) vztažená na miligram proteinu; $p=0,0457$, $n=3$.

7. Jednotka u obrázku (grafu) 10



Obr. 3 - Relativní produkce superoxidu v kontrolních plicích a v plicích po podání malonátu. Měřeno ve zmražených vzorcích plicní tkáně pomocí elektronové paramagnetické resonance jako bezrozměrná veličina intenzity signálu.

8. Doplnění značky rozdílu u grafu (obrázku) 7



Obr. 4 – Zvýšení perfusního tlaku v odpovědi na hypoxii před (světle šedý sloupec) a po podání (černý sloupec) malonátu. SD (směrodatná odchylka) pro tyto hodnoty je 2,27 a 1,70 mmHg v uvedeném pořadí.

9. Úprava věty o hypotéze (str. 45, řádek 15 až 17)

Tento výsledek interpretujeme vsouladu s naší hypotézou, podle které je pro iniciaci HPV signalizace důležitá inhibice SDH.