

**OPONENTSKÝ POSUDEK**  
**disertační práce Ing. Jiřího Kukačky**  
**Identifikace a stanovení metaloproteinů a metaloproteináz v experimentálních**  
**modelech a v souborech pacientů**

Oponovaná práce vznikla s podporou grantového projektu IGA MZ ČR NR 8793-3/2006 a grantů GAUK 45/2001/C a 48/2003/C. Už z toho se dá usuzovat na aktuálnost řešeného tématu. Autor se v první části disertace zabýval stanovením vybraných proteinů, metaloproteináz a metalothioneinu a jejich ovlivněním v srdečním svalu potkanů. V další části práce se vytkl za cíl zavést metodiku pro identifikace vybraných metaloproteináz a metalothioneinu v biologických tekutinách a následně stanovit jejich koncentrace u pacientů s dyslipidemiemi a traumatickým poškozením mozku. Jednotčím prvkem práce je stanovování některých metaloproteináz a metalothioneinu jak v tkáních, tak v krevním séru.

Práce má 150 stran textu a 17 stran příloh, dokládajících publikační a přednáškovou aktivitu autora. Disertace je psána s obvyklým členěním a jednoznačně vytyčenými cíli. Třetinu práce tvoří úvod do problematiky metaloproteinů a metaloproteináz. Autor se zaměřil na metaloproteiny se zinkem a matrixové metaloproteinázy a jejich inhibitory. Nejprve popsal jejich složení a klasifikaci, potom charakterizoval doposud známé fyziologické funkce a následně se věnoval jejich podílu při rozvoji vybraných patologických stavů především s ohledem na cíle předkládané disertace. Celá kapitola je psána přehledně, čtenáři umožní velmi dobrou orientaci v rozvíjející se oblasti biochemie a je doplněna velkým množstvím citací nejen pro danou problematiku základních, ale i těch recentních (celkový počet citací je 317).

V kapitole Metody (14 stran) jsou uvedeny všechny podstatné údaje o souborech zvířat a experimentálních podmínkách včetně dávkování použitých farmak. Podobně jsou vcelku dostatečně charakterizovány soubory pacientů a zvolená kritéria pro jejich zařazení do jednotlivých experimentálních skupin. Nechybí ani nezbytné vyjádření etické komise. Příprava vzorků, použité metody stanovení i způsob statistického zpracování jsou popsány vyhovujícím způsobem, část metod použitých pro charakterizaci remodelace myokardu má na pracovišti tradici.

Výsledková část (26 stran) je členěna do oddílů s ohledem na jednotlivé cíle práce (experimenty na zvířatech, vyšetření pacientů) s velmi dobrou a pečlivě zpracovanou dokumentací, použitá statistická hodnocení odpovídají charakteru posuzovaných souborů. V pokusech zaměřených na sledování proteinů extracelulární matrix v srdci potkanů ovlivněných hypoxií či amfetaminem byl podrobněji studován základní protein extracelulární matrix – kolagen, a to jak prostřednictvím stanovení 4-hydroxyprolinu, tak množstvím exprimované mRNA pro prokolagen  $\alpha_1$  (z kolagenu typu I) a prokolagen  $\alpha$  (z kolagenu typu III), nejběžněji se vyskytujících kolagenů. Zavedené metodiky stanovení metaloproteináz (MPP-2, 3 a 9) a metalothioneinu byly využity s cílem posoudit jejich vhodnost jako dalších parametrů pro posuzování prognózy a monitorování úspěšnosti léčebných zásahů u tak závažných onemocnění jako jsou kardiomyopatie, ISCH, dyslipidémie, či traumatická poškození mozku. Autor prokázal, že metaloproteinázy se podílejí významně na remodelaci srdeční svaloviny za hypoxických stavů a podání jejich inhibitoru ze skupiny chelátorů zinku se projeví méně výraznými změnami. Podobně i podání hypolipidemik snížilo koncentraci cirkulující MPP-9.

V diskusi (19 stran), členěné analogicky jako výsledková část, student prokázal, že dokáže získané údaje zhodnotit, posoudit v souvislosti s literárními údaji a zformulovat závěry. Bezprostředním výstupem disertace, který by se dal využít v klinické praxi, je stanovení koncentrací některých metaloproteináz v séru pacientů s dyslipidemiemi

k posouzení efektu hypolipidemické léčby a stanovení MPP a metalothioneinu jako prognostického markeru u traumatických poškození mozku.

Celá disertace je psána přehledně, srozumitelně s malým počtem překlepů. Z přílohy je patrná značná publikační a přednášková aktivita studenta, a to nejen v oblasti bezprostředně související s obhajovaným tématem. Pozitivem jsou bezesporu 3 publikace s impact faktorem, kde je ing. Kukačka prvním autorem.

K autorovi mám tyto dotazy:

- 1) Chronická třítydenní hypoxie a podání samotného batimastatu vyvolalo na první pohled analogické změny v koncentracích ve frakci kontraktilních proteinů a nerozpustných proteinů ECM. Máte pro to nějaké vysvětlení?
- 2) U pacientů s dyslipidemiemi byl dost podstatný rozdíl (vcelku logicky) v průměrném věku mužů (41 let) a žen (62 let). Jaké byl průměrný věk mužů a žen ve skupině kontrol?
- 3) Jak perspektivní se z Vašeho pohledu jeví zavedení stanovení koncentrací metalothioneinu do praxe?

**Závěr:**

Oponovaná práce ing. Jiřího Kukačky splňuje požadavky kladené na disertační práci. Doporučuji ji proto přijmout a uchazeči i s ohledem na jeho publikační aktivitu po splnění zákonných náležitostí udělit titul Ph.D.

24. 1. 2008

doc. MUDr. Alena Stoklasová, CSc.  
Ústav lékařské biochemie  
UK-LFHK