

OPONENTSKÝ POSUDEK

na doktorskou dizertační práci
„Metabolismus proteinů v izolovaném kosterním svalu potkana – vliv inhibitorů proteazomu“

Autor práce: Mgr. Tomáš Muthný

Pracoviště: Universita Karlova v Praze, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové, Katedra farmakologie a toxikologie

Školitel: Doc. MUDr. Ivan Tilšer, CSc., Katedra farmakologie a toxikologie FaF UK v Hradci Králové

Školitel specialista: Prof. MUDr. Milan Holeček, DrSc., Ústav fyziologie, LF UK v Hradci Králové

Oponent: Doc. MUDr. Stanislav Mičuda, Ph.D., Ústav farmakologie, LF UK v Hradci Králové

Obecná charakteristika práce:

Dizertační práce Mgr. Tomáše Muthného „Metabolismus proteinů v izolovaném kosterním svalu potkana – vliv inhibitorů proteazomu“ je předložena ve formě řádně strukturovaného rukopisu se všemi náležitostmi (obsah, seznamu zkratk, úvod, cíle práce, metodiky, výsledky, diskuze, závěry, seznam literatury, souhrn, obrazová dokumentace a přiložené publikované práce autora). Celkový rozsah práce je 91 stran (včetně 8 obrázků, 21 tabulek, 4 grafů a 160 převážně recentních citací). Současně je přiloženo 7 publikací in extenso (až na jednu výjimku všechny v zahraničních časopisech s IF) u dvou z nich je předkladatel prvním autorem (obě v zahraničním časopise s IF). Úhrnný IF publikovaných prací je 11,5.

Zhodnocení dizertační práce:

Úvodní kapitola se skládá ze 4 částí. V první části autor stručně a přehledně informuje o metabolismu bílkovin v kosterním svalstvu a o proteinové bilanci v organizmu. Další části jsou věnovány přiblížení významu ubiquitin-proteazomálního systému (UPS) a jeho pozice v různých způsobech degradace kosterního svalstva u proteokatabolických stavů. V závěrečné části úvodu autor sumarizuje současné možnosti farmakologické inhibice proteazomální degradace. **Celkově je úvod zpracován výborně**, přehlednou a srozumitelnou formou nabízí velmi kvalifikovaný základ pro vlastní odbornou práci.

Cíle práce se podařilo formulovat jasně, jsou aktuální se směřováním na tři experimentální oblasti řešení – získání vhodného proteokatabolického modelu v různých typech kosterního svalstva a jeho použitím posoudit účinky nových inhibitorů proteazomu na bázi homobelaktosinu C a hodnotit vliv bortezomibu na metabolismus proteinů.

Zvolené **metody** odpovídají cílům řešení, jsou sofistikované a jejich rozsah naznačuje výraznou experimentální činnost autora během studia. Zejména se to týká *in vitro* experimentů na modelu izolovaných kosterních svalů potkana.

Výsledková část práce je velmi bohatá a je založena převážně na prezentaci dat publikovaných ve dvou pracích in extenso, u kterých je předkladatel hlavním autorem.

V souladu s cíli jsou postupně prezentovány tři okruhy poznatků. První se týká porovnání modelu lokálního zánětu (terpentýnový olej) a sepse (endotoxin) z pohledu vlivu na metabolismus proteinů a aminokyselin v různých typech kosterních svalů. U obou zmíněných modelů je prezentován proteokatabolický stav a jsou demonstrovány rozdíly mezi pomalými (červenými - na příkladu m. soleus) a rychlými (bílymi – m. extensor digitorum longus) svalovými vlákny. Druhá studovaná oblast se týkala hodnocení vlivu dvou nových inhibitorů proteazomu, belaktosinu A a C, na metabolismus proteinů a aminokyselin v různých typech kosterních svalů u potkanů. U obou látek se podařilo demonstrovat pokles proteolýzy v izolovaných svalech včetně vlivu na další děje, jakými jsou např. myofibrilární proteolýza. Ve třetí části jsou prezentovány údaje z hodnocení vlivu bortezomibu v identických svalových modelech proteolýzy. Tato práce přináší úplně nový pohled na danou problematiku a naznačila možnost různorodé regulace katabolických procesů.

Diskuse, závěr i souhrn odpovídají dosaženým výsledkům. Autorovi se podařilo v bohaté diskusní části (6 stran) přiléhavě interpretovat prezentovaná data v kontextu s recentními poznatky. Následně učiněné závěry jsou střízlivé a podtrhují význam získaných výsledků. V tomto směru byla role oponenta výrazně zjednodušena, jelikož většina prezentovaných výsledků prošla náročným revizním procesem v rámci přijetí k publikaci v časopisech s IF.

Po formální stránce má práce dobrou úroveň, má logické členění, je napsána přehledně, má odpovídající grafickou a obrázkovou dokumentaci.

Připomínky oponenta:

Nejsou.

Dotazy oponenta:

- Z úvodu to částečně vyplývá, ale dovolil bych si dotaz, jestli je v současnosti už více objasněn mechanismus, který iniciálně označí, který protein má být degradován, tj. jak buňka „rozhodne“, že daný protein „už splnil svoji funkci a potřebuje vyměnit“?

Zhodnocení publikační aktivity autora:

Předložená dizertační práce má základ ve dvou kvalitních pracích, které byly publikovány v časopisech s IF (1,172 a 2,321). Tomáš Muthný byl u obou těchto studií prvním autorem. Navíc je dizertant spoluautorem řady dalších sdělení, takže celkově je Mgr. Muthný prezentován v autorském kolektivu 7 původních prací publikovaných v odborných časopisech (z toho 6x v časopisech s IF).

Kromě toho je Mgr. Muthný 3x prvním autorem a 3x spoluautorem abstraktů z mezinárodních konferencí. Všechny tyto údaje svědčí o jeho významné vědecké aktivitě a také o mimořádné kvalitě pracovního týmu, jehož byl součástí.

Souhrnné hodnocení práce:

Předložená dizertační práce jednoznačně dokazuje, že doktorand během svého studia pracoval ve zkušeném výzkumném kolektivu, zvládl značný rozsah vědeckých prací experimentálního charakteru, od přípravy experimentu, přes provádění náročných in vivo i in vitro experimentů, následných analýz a vyhodnocování dat až po sepisování rukopisů, jejichž publikování dokázal uhájit v časopisech s impakt faktorem. Dvě prvouatorství svědčí o značném rozsahu provedených prací. Nelze proto než konstatovat, že stanovené cíle dizertační práce byly dosaženy výtečným způsobem.

Závěr:

Konstatuji, že oponovaná práce Mgr. Tomáše Muthného splňuje v plném rozsahu požadavky kladené na dizertační práci. Dokládá schopnost autora úspěšně řešit složité vědecké problémy, využívat k tomu nejmodernější metody a přístupy a výsledky vhodnou formou prezentovat. Práce má nejen hodnotu jako kvalifikační spis, ale představuje i značný vědecký přínos.

Doporučuji proto kladné přijetí dizertační práce a její podstoupení k dalšímu řízení, jehož zakončením bude udělení hodnosti PhD.

V Hradci Králové dne 10.3.2010

Doc. MUDr. Stanislav Mičuda, PhD.
Ústav farmakologie
UK v Praze, LF v Hradci Králové