

Oponentský posudek na doktorskou disertační práci
Mgr. Lubomíra Kříže
„Sulfation and desulfation of neuroactive steroids in normal and neoplastic primate brain tissues“

Studium biosyntézy a metabolických přeměn steroidů v orgánech, jež nejsou řazeny mezi klasické endokrinní žlázy, patří mezi významné trendy současné endokrinologie vedoucí k lepšímu pochopení účinků steroidních hormonů na úrovni jednotlivých orgánů a tkání a jejich role jak při udržování homeostázy tak při vzniku patologických stavů. Mozek a nervová tkáň zaujímají v této problematice výlučné postavení. To je dáno jednak existencí hematoencefalické bariéry, jež zásadně omezuje výměnu řady látek včetně steroidů mezi tkání a krevním řečištěm, jednak velmi omezenou dostupností experimentálního materiálu.

Disertační práce Mgr. Lubomíra Kříže „Sulfation and desulfation of neuroactive steroids in normal and neoplastic primate brain tissues“ představuje nezanedbatelný přínos disertanta na tomto poli.

Práce je sestavena z vlastního textu o rozsahu 63 stran (včetně seznamu literatury) a vložených tří původních publikací v kvalitních mezinárodních časopisech. Sympatickým rysem je skutečnost, že práce je sepsána v anglickém jazyce, na velmi dobré jazykové úrovni a téměř bez překlepů, což ji činí přístupnou širšímu okruhu čtenářů.

Disertace je členěna do následujících oddílů:

1. Teoretická část (Introduction)
2. Cíle práce (Aims)
3. Metody (Methods)
4. Publikace 1-3
5. Diskuse
6. Závěr
7. Seznam literatury
8. Seznam vlastních aktivit disertanta

Ad.1 Teoretická část začíná stručným a konzistentním shrnutím obecných (tzv. „učebnicových“) fakt z oblasti biochemie steroidů (3 strany) a pokračuje kvalitní a logicky strukturovanou rešerší jež se věnuje neurosteroidům, metabolismu a funkci steroidů v nervové tkáni, negenomovým účinkům steroidů v nervové tkáni, interkonverzi dehydroepiandrosteronu a dehydroepiandrosteron-sulfátu a funkci homocysteinu v nervové tkáni.

Ad. 2. Jako cíle práce si disertant vytknul vývoj metodologie pro stanovení vybraných steroidů v mozkové tkáni primátů a jejich aplikaci při studiu aktivity a funkce steroidní sulfotransferázy a sulfatázy ve zdravé a v nádorové tkáni.

Ad. 3. Pouze dvoupůlstránková kapitola „Methods“ místo klasického seznamu chemikálií a popisu použitých experimentálních postupů, jež by čtenář na tomto místě disertace očekával, přináší souhrnný komentář k metodikám dostatečně popsáním v příložených publikacích. Nicméně i na tomto prostoru autor dokázal prezentovat řadu problémů, jež musel během práce vyřešit (stabilizace enzymových preparátů vůči proteolýze, volba typu extrakce, volba značení substrátu pro enzymovou reakci, derivatizační postupy pro GC, citlivost detekčních metod a další).

Ad. 4. Všechny tři předložené práce byly publikovány v recenzovaných mezinárodních časopisech, které patří mezi přední periodika ve svém oboru, první z nich se již dočkala dvou citací zaznamenaných v databázi WOS. Publikace 1 přináší charakterizaci aktivit a distribuce steroidové sulfatázy a sulfuryl transferázy v mozcích makaka rhesuse (*Macaca mulatta*). Autoři pozorovali významné rozdíly v aktivitách a distribuci sledovaných enzymů mezi samci a samicemi makaka. Publikace 2 přináší původní data o výskytu a koncentracích cysteinu, homocysteinu a methioninu ve čtyřech druzích mozkových nádorů u lidí. Publikace 3 se zabývá aktivitami steroidové sulfatázy a sulfuryl transferázy rovněž v čtyřech druzích lidských nádorů mozku. Vzhledem k exkluzivitě předmětu studia je pozoruhodný již jenom počet 55 vyšetřených pacientů. Díky tomu bylo možné statistické zpracování dat, jež odhalilo změněné poměry aktivit studovaných enzymů v jednotlivých typech nádorů. Důležitým poznatkem je rovněž zjištění, že aktivity steroidové sulfatázy a sulfuryl transferázy v nádorech nejsou ovlivněny pohlavím pacienta.

Ad 5.

V diskusi bych rád položil disertantovi následující otázky:

1. Kolikrát nižší byla citlivost vámi testované RIA pro DHEAS ve srovnání s RIA pro DHEA, jež vás nakonec vedla k použití nepřímého stanovení DHEAS? Jsou známy důvody tohoto rozdílu?
2. Na str. 35. uvádíte jako důvod pro volbu enzymové hydrolýzy poznatek, že solvolýza kyselinou sírovou vedla k částečné destrukci steroidního jádra. Zkoušeli jste i jinou kyselinu (např. chlorovodíkovou)?
3. Jsou dostupné informace o rozsazích pH, které se mohou vyskytovat ve zdravé nádorové mozkové tkáni? Pokud ano, mohl byste ve vztahu k nim diskutovat vaše informace o závislosti enzymových aktivit steroidové sulfatázy a sulfuryltransferázy na pH.

Závěr:

Disertační práce Mgr Lubomíra Kříže je na vysoké odborné úrovni a její autor plně prokázal, že je schopen samostatné vědecké práce. Doporučuji proto, aby jeho práce byla komisí pro obhajoby přijata k obhajobě a autorovi udělena vědecká hodnost doktor.

V Praze 12.2.2008

doc. RNDr. Oldřich Lapčík, Dr.
Ústav chemie přírodních látek
Fakulta potravinářské a biochemické technologie
Vysoká škola chemicko-technologická v Praze
Technická 5
166 28 Praha 6