

Posudek oponenta bakalářské práce

Autor(ka) práce: Dan Dostál

Název práce: **WARBURGŮV EFEKT – PODSTATA A MECHANISMUS REGULACE**

Jméno oponenta: **Mgr. Belma Skender**

	Kritérium hodnocení	max. bodů	Body
1	celkový rozsah, správnost členění (Titulní strana, Poděkování, Obsah, Úvod, vlastní text, Závěr, Literatura) a struktura textu (kapitoly) bakalářské práce	3	2
2	kvalita literární rešerše (množství použitých původních pramenných zdrojů, vhodnost výběru)	5	2
3	výstižnost a kvalitazpracování poznatků z literární rešerše vzhledem k tématu	10	4
4	zpracování kapitoly Úvod a Závěr vzhledem k tématu	5	2
5	jazyková a stylistická úroveň, gramatická správnost	5	2
6	obrázky, tabulky a grafy (legendy a popis, srozumitelnost bez zřetele k ostatnímu textu, vysvětlení značek, odkazy v textu)	4	2
7	správnost používání citačních odkazů (chybějící, nadbytečné citace v textu nebo v části Literatura, přítomnost necitovaných údajů, dodržování jednotného stylu citací)	5	2
8	grafická úprava textu a obrázků	3	1
Celkem bodů			17

V případě závažnějších formálních nedostatků snižte známku o jeden stupeň nebo práci nedoporučte k obhajobě.

Dotazy a připomínky (možno připojit i samostatný list) :

K předložené práci mám připomínky, které bodově uvádím níže.

Podrobnější připomínky a příklady jsou přiloženy jako samostatná příloha.

(1) Vlastní text bakalářské práce je z velké části nesrozumitelný a je náročné orientovat se v logické návaznosti předložených informací. V textu jsou také doslovné překlady citovaných zdrojů a přejímání anglických výrazů a zkratk (opsané části lze dohledat pomocí "Google překladače", viz. příloha str. č. 1-6)

(2) V textu práce se často vyskytují hovorové výrazy (viz. příloha str. č. 6-7)

(3) Chyby ve způsobu citování (viz. příloha str. 7-8)

Dotazy:

1. Autor uvádí na str. č. 11: "Celkově můžeme tvrdit, že buňka se stává rakovinou až po získání schopnosti Warburgova efektu."

V souvislosti s tímto tvrzením, prosím, autora o vysvětlení, jak je možné, že některé typy nádorů nevykazují Warburgův efekt a není možné je vysledovat pomocí metody PET v kombinaci s glukózovými analogy (autor tuto metodu zmiňuje ve své práci)?

2. Autor uvádí na str. č. 20: "Snížená mitochondriální masa souvisí s rezistencí k apoptóze, kterou má většina rakovinných buněk, jelikož mitochondrie se podílejí na jejím průběhu."

Prosím, uveďte autora a zdroj zmíněné informace a vysvětlete konkrétně jak mitochondriální masa souvisí s rezistencí nádorových buněk k apoptóze?

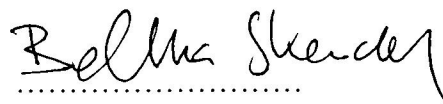
Závěr:

práci doporučuji k obhajobě a navrhuji známku:

Navržená známka:

vyhovující

V Brně dne: 4.6.2014



Podpis oponenta

1. výborně 2. velmi dobře 3. dobře 4. uspokojivě 5. vyhovující 6. nevyhovující
10 9 8 7 6 5 4 3 2 1

Příloha k posudku bakalářské práce D. Dostála

(1) Problematické vyjadřování a doslovné překládání anglických textů do češtiny:

Str. 12 autor uvádí:

„Jednobuněčné organismy procházející exponenciálním růstem se často množí za pomoci fermentování glukosy na malé organické molekuly, jako je ethanol či laktát. Tyto organismy spolu s proliferujícími buňkami mnohobuněčného organismu metabolizují glukosu především glykolýzou a vylučují tak velké množství uhlíku ve formě ethanolu, laktátu či dalších organických kyselin, jako je kyselina octová nebo máselná.“

Část popisu k obrázku Fig. 1 z publikace: Understanding the Warburg Effect: The Metabolic Requirements of Cell Proliferation, Matthew G. Vander Heiden, Lewis C. Cantley, Craig B. Thompson, Science 324, 1029 (2009).

„Unicellular organisms undergoing exponential growth often grow by fermentation of glucose into a small organic molecule such as ethanol. These organisms, and proliferating cells in a multicellular organism, both metabolize glucose primarily through glycolysis, excreting large amounts of carbon in the form of ethanol, lactate, or another organic acid such as acetate or butyrate...“

Str. 12 autor uvádí:

„Při nedostatku živin se jednobuněčné organismy stejně jako buňky mnohobuněčných organismů nestimulovaných k proliferaci, spoléhají na oxidativní metabolismus, glukosa se zpracovává až na vodu a oxid uhličitý za vzniku ATP (adenosintrifosfát).“

Další část popisu k obrázku Fig. 1 z publikace: Understanding the Warburg Effect: The Metabolic Requirements of Cell Proliferation, Matthew G. Vander Heiden, Lewis C. Cantley, Craig B. Thompson, Science 324, 1029 (2009).

„Unicellular organisms starved of nutrients rely primarily on oxidative metabolism, as do cells in a multicellular organism that are not stimulated to proliferate.“

Str. 13 autor uvádí:

„...z čehož vyplývá jistá výhoda neoxidativního metabolismu během buněčné proliferace a oxidativního v době limitovaného množství živin.“

Další část popisu k obrázku Fig. 1: Understanding the Warburg Effect: The Metabolic Requirements of Cell Proliferation, Matthew G. Vander Heiden, Lewis C. Cantley, Craig B. Thompson, Science 324, 1029 (2009).

„...is an advantage to oxidative metabolism during nutrient limitation and nonoxidative metabolism during cell proliferation.“

Str. 13 autor uvádí:

„...plazmatická membrána obecně postrádá přenašeče fosforylovaných sacharidů, takže po úvodní fosforylaci již není třeba vynakládat energii pro udržení glykolytických intermediátů v buňce, navzdory extra a intracelulárním rozdílům v koncentraci (Mor *et al.*, 2011).“

V textu práce uvedený jiný zdroj citace.

Výňatek z knížky: *Lehninger Principles of Biochemistry (International Edition), David L Nelson (Author), Michael M Cox (Author), International Edition, MacMillan), 6th edition.*
str. 525, Kapitola 14: GLYCOLYSIS, GLUCONEOGENESIS, AND THE PENTOSE PHOSPHATE PATHWAY:

„...the plasma membrane generally lacks transporters for phosphorylated sugars.... After the initial phosphorylation, no further energy is necessary to retain phosphorylated intermediates in the cell, despite the large difference in their intracellular and extracellular concentrations.“

Str. 14 autor uvádí:

„Fermentace je obecný termín pro procesy extrahující energii (ATP), ale nespotřebovávající kyslík a neměníci koncentraci NAD⁺ nebo NADH (Nelson a Cox, 2008).“

výňatek z knížky: *Lehninger Principles of Biochemistry (International Edition), David L Nelson (Author), Michael M Cox (Author), International Edition, MacMillan), 6th edition*
str. 538, Kapitola 14: GLYCOLYSIS, GLUCONEOGENESIS, AND THE PENTOSE PHOSPHATE PATHWAY:

„Fermentation is the general term for such processes, which extract energy (as ATP) but do not consume oxygen or change the concentrations of NAD⁺ or NADH.“

Str. 16 autor uvádí:

„Nejúčinněji aktivuje PFK-1 F26P2 a to i v přítomnosti zvýšeného množství ATP (Hers a Van Schaftingen, 1982; Moreno-Sanchez *et al.*, 2007).“

Autor převzal z originálního textu i citace, které tam byly uvedené.

citace z článku: *Control of Glycolysis through Regulation of PFK1: Old Friends and Recent Additions, I. Mor, E.C. Cheung and K.H. Vousden, Cold Spring Harb Symp Quant Biol 2011 76: 211-216*

„The most potent allosteric activator of PFK-1 is fructose 2,6 bisphosphate (F2,6BP), which can elevate enzymatic activity even in the presence of ATP (Hers and Van Schaftingen 1982; Moreno-Sanchez *et al.* 2007).“

Str. 16 autor uvádí:

„V nedávné době se ukázalo, že F26P2 má mnohem širší účinky na enzymy glykolýzy, což bylo dokázáno vlivem F26P2 na expresi dvou klíčových enzymů metabolismu glukosy, GK a glukosa-6-fosfatasy (G6Pasa). Pokud v játrech dojde ke zvýšení úrovně F26P2, dochází také ke zvýšení genové exprese a tím i množství proteinového produktu GK a současného snížení G6Pasy. (Wu *et al.*, 2006)“

citace z článku: Roles for fructose-2,6-bisphosphate in the control of fuel metabolism: Beyond its allosteric effects on glycolytic and gluconeogenic enzymes, Chaodong Wu, Salmaan A. Khan, Li-Jen Peng, Alex J. Lange, Advan. Enzyme Regul. 46 (2006) 72–88

„Recently, a number of novel observations have suggested that F26P2 has much broader effects on the enzymes of glucose metabolism. This is evidenced by the effects of F26P2 on the gene expression of two key glucose metabolic enzymes, glucokinase (GK) and glucose-6 phosphatase (G6Pase). When levels of F26P2 are elevated in the liver, the gene expression and protein amount of GK is increased whereas G6Pase is decreased.“

Str. 16 autor uvádí:

„O tom, zda bude enzym působit jako kinasa nebo jako fosfatasa rozhoduje fosforylace, která je regulována krevní hladinou glukosy a potažmo tedy glukagonem a insulinem. Nízký krevní cukr (vysoký glukagon) způsobuje fosforylaci enzymu, což se projevuje přeměnou F26P2 zpět na F6P, a tudíž zpomalením glykolýzy.“

Ve vlastním textu práce není uvedena citace této informace.

Z internetového zdroje: <http://cmgm.stanford.edu/biochem200/regulation/> (kontrolováno dne 30.5.2014)

„Phosphorylation of the bifunctional enzyme is regulated by blood glucose level, mediated by glucagon and insulin. High glucagon (low blood sugar) causes phosphorylation of the enzyme, which results in conversion of F-2,6-BP back to F6P, removing its stimulatory effect on PFK, and therefore slowing the rate of glycolysis.“

Str. 17 autor uvádí:

„Podobně jako PFK-1 je také PK regulována allosterickými efekty a kovalentní modifikací (fosforylace). PK je aktivována F16P2 a allostericky je inhibována ATP a alaninem. Inhibičně působí také acetyl-CoA. Fosforylace PK je ovlivňována glukosemií stejně jako PFK-1. Vysoký glukagon (nízká glukosemie) způsobuje fosforylaci enzymu, který se tak stává méně aktivním.“

V textu není uvedena žádná citace této informace.

Z internetového zdroje: <http://cmgm.stanford.edu/biochem200/regulation/> (kontrolováno dne 30.5.2014)

„Like PFK, pyruvate kinase is regulated both by allosteric effectors and by covalent modification (phosphorylation). Pyruvate kinase is activated by F-1,6-BP in the liver, a second example of feedforward stimulation. ATP and alanine (a biosynthetic product of pyruvate) act as allosteric inhibitors of pyruvate kinase. Phosphorylation of pyruvate kinase is regulated by blood glucose level, just like PFK. High glucagon (low blood sugar) causes phosphorylation, which in this case renders the enzyme inactive.“

Str. 17 autor uvádí:

„Velké množství NADH a menší množství FADH2 vzniklé glykolýzou a dalšími metabolickými drahami se využívá k zásobování energie nutné pro syntézu ATP oxidativní

fosforylací (OXPHOS). Oxidace NADH a fosforylace ADP pro vytvoření ATP jsou procesy zajišťované mitochondriálním elektronovým transportním řetězcem a ATP-synthasou, což jsou integrální proteinové komplexy nacházející se na vnitřní mitochondriální membráně.“

V textu práce není uvedena žádná citace této informace.

Z internetového zdroje: <http://themedicalbiochemistrypage.org/oxidative-phosphorylation.php> (kontrolováno dne 30.5.2014)

„The large quantity of NADH resulting from glycolysis, fatty acid oxidation, and the TCA cycle used to supply the energy for ATP synthesis via oxidative phosphorylation. Oxidation of NADH with phosphorylation of ADP to form ATP are processes supported by the mitochondrial electron transport assembly and ATP synthase, which are integral protein complexes of the inner mitochondrial membrane.“

Str. 19 autor uvádí:

„Vnitřní membrána nese komplexy respiračního řetězce a OXPHOS, mitochondriální matrix, uzavřen vnitřní membránou, obsahuje pyruvátdehydrogenasový komplex, enzymy Krebsova cyklu, β -oxidace a oxidace aminokyselin.“

Chybí citace.

Z internetového zdroje: <http://basic.shsmu.edu.cn/biochem/dagang/sh/8.htm> (kontrolováno dne 1.6.2014)

„The mitochondrial matrix contains the pyruvate dehydrogenase complex and the enzymes of the citric acid cycle, the fatty acid β -oxidation pathway, and pathways of amino acid oxidation.“

Str. 20 autor uvádí:

„Většina solidních tumorů vykazuje sníženou mitochondriální masu o 25-60% při srovnání s normální proliferující tkání. Buňkám to značí, že jsou v nediferencovaném stavu, podobně jako kmenové buňky, které mají srovnatelnou mitochondriální masu (Pedersen, 1978) a buňky tak získávají většinu své energie glykolýzou i za normoxie.“

Autor převzal i citaci, která byla uvedena v originálním textu.

citace z článku: Chapter X. Phosphorylation of mammalian cytochrome c and cytochrome c oxidase in the regulation of cell destiny: respiration, apoptosis, and human disease, Maik Hüttemann, Icksoo Lee, Lawrence I. Grossman, Jeffrey W. Doan, and Thomas H. Sanderson, *Adv Exp Med Biol* 2012 ; 748: 237–264.

„Metabolism changes during carcinogenesis, and most solid tumors show a 25-60% reduction of mitochondrial mass compared to healthy differentiated tissue (Pedersen et al. 1978). During carcinogenesis cells shift their metabolism from aerobic energy production to glycolysis.“

Str. 22 autor uvádí:

„Rovněž bylo dokázáno, že navzdory glykolytickému fenotypu PSC, mitochondriální dynamika a údržba integrity mitochondriální buněčné sítě je nezbytná k údržbě pluripotence (Todd *et al.*, 2010).“

Autor převzal i citaci, která byla uvedena v originálním textu.

citace z článku: Mitochondrial Regulation in Pluripotent Stem Cells, Xiuling Xu, Shunlei Duan, Fei Yi, Alejandro Ocampo, Guang-Hui Liu, and Juan Carlos Izpisua Belmonte, Cell Metabolism 18, August 6, 2013

„Unexpectedly, these data demonstrate, for the first time, that despite the glycolytic metabolic state of PSCs, mitochondrial dynamics and maintenance of proper mitochondrial network integrity are crucial for the maintenance of pluripotency (Todd et al., 2010).“

Str. 26 autor uvádí:

- (1) „Využitím 2D gelové elektroforézy a barvení fosforylovaných proteinů Pro-Q-Diamond s následnou hmotnostní spektrometrií byla zjištěna fosforylace všech OXPHOS komplexů (Hopper *et al.*, 2006).“

Autor převzal i citaci, která byla uvedena v originálním textu.

citace z článku: Regulation of mitochondrial oxidative phosphorylation through cell signaling, Maik Hüttemann, Icksoo Lee, Lobelia Samavati, Hong Yu, Jeffrey W. Doan, Biochimica et Biophysica Acta 1773 (2007) 1701–1720.

(1), „...using 2D gel electrophoresis, staining of phosphorylated proteins with Pro-Q-Diamond, and identification of phosphorylated proteins through mass spectrometry suggested phosphorylation of all OxPhos complexes [39].“

(citace 39: R.K. Hopper, S. Carroll, A.M. Aponte, D.T. Johnson, S. French, R.F. Shen, F.A. Witzmann, R.A. Harris, R.S. Balaban, Mitochondrial matrix phosphoproteome: effect of extra mitochondrial calcium, Biochemistry 45 (2006) 2524–2536.)

- (2) „Ačkoli fosfátové skupiny nebyly spojeny s žádnou specifickou sekvencí, studie prokázala, že kontrolním bodem regulace je fosforylace proteinů zajišťovaná buněčnou signální kaskádou (Hüttemann *et al.*, 2007).“

citace z článku: Regulation of mitochondrial oxidative phosphorylation through cell signaling, Maik Hüttemann, Icksoo Lee, Lobelia Samavati, Hong Yu, Jeffrey W. Doan, Biochimica et Biophysica Acta 1773 (2007) 1701–1720.

(2), „Although no phosphate groups were assigned to specific amino acids and no functional studies were undertaken for any of the OxPhos complexes, this study provides strong evidence that the input point of the OxPhos system is targeted for regulation via cell signaling cascades, which would be expected for a key metabolic enzyme.“

Str. 27 autor uvádí:

„Všeobecně uznávaným klinickým projevem maligních tumorů je jejich sklon k rapidní proliferaci a šíření (metastázi) uvnitř svého hostitele. Ačkoli jsou početné molekulární

strategie umožňující toto chování tumorem využity, nezbytnou částí je právě schopnost tumoru zmocnit se neobyčejně velkého množství glukosy z hostitelovy krve, které je následně využito nejen k růstu, ale také k otrávení svého okolí a tvorbě „molekulární pustiny“, kde je mu umožněno postupně metastázovat (Mathupala *et al.*, 2010).“

Tato citace nebyla uvedena v části Literatura.

citace z článku: *The Pivotal Roles of Mitochondria in Cancer: Warburg and Beyond and Encouraging Prospects for Effective Therapies*, Saroj P. Mathupala, Young H. Ko, and Peter L. Pedersen, *Biochim Biophys Acta*. 2010 ; 1797(6-7): 1225–1230.

„A universally observed clinical phenotype of highly malignant tumors is their propensity to rapidly proliferate and spread (metastasize) within the tumor-bearing host. Although numerous molecular strategies are harnessed by the tumor to enable them to behave in this insidious manner, a crucial component required is the tumor’s ability to usurp inordinate amounts of glucose from the host’s blood, which in turn is used by the tumor not only to grow, but to also poison its surroundings in order to create a “molecular wasteland” around the tumor, into which it can gradually “metastasize”

Str. 33 autor uvádí:

„DCA dokáže indukovat apoptózu některých typů rakovinných buněk tím, že obnoví běžnou expresi proteinů K⁺ kanálů. K⁺ ionty působí inhibičně na kaspázy, proto jejich zvýšené množství potlačuje apoptózu některých typů buněk, včetně nádorových (Andersson *et al.*, 2006).“

V citovaném článku nebylo možné dohledat zmíněnou informaci.

Str. 33 autor uvádí:

„Bylo prokázáno, že redukce LDHA působí vysoký bioenergetický a oxidativní stres vedoucí až k buněčné smrti. Použitím molekuly FX11, což je metabolický inhibitor, se dokázalo, že LDHA nehraje roli jen v iniciaci vývoje tumoru, ale i v jeho údržbě a vývoji (Le *et al.*, 2009).“

citace z článku: *Inhibition of lactate dehydrogenase A induces oxidative stress and inhibits tumor progression*, Anne Le, Charles R. Cooper, Arvin M. Gouw, Ramani Dinavahi, Anirban Maitra, Lorraine M. Deck, Robert E. Royer, David L. Vander Jagt, Gregg L. Semenza, and Chi V. Dang, *PNAS*, 2010, vol. 107, no. 5, 2037–2042.

„...we report that reduction of LDHA causes bioenergetic and oxidative stress leading to cell death. Furthermore, using a drug-like small molecule (FX11 [3-dihydroxy-6-methyl-7-(phenylmethyl)-4-propylnaphthalene-1-carboxylic acid]), we document that LDHA is required not only for tumor initiation but for tumor maintenance and progression.”

(2) Nestandardní věty a slovní obraty, které jsou spíše charakteru hovorové češtiny.

Níže uvedené příklady:

Str. 11 autor uvádí:

„Otto Heinrich Warburg v roce 1924 demonstroval, **že aby** rakovinné buňky vyhověly svým energetickým požadavkům, vykazují zvýšenou aktivitu glykolýzy...“

Str. 12 autor uvádí:

Autorův popis obrázku:

„Obr. 1 Rozdíl využívání **daného** typu metabolismu při **daných** podmínkách u **daných** typů buněk (Vander Heiden *et al.*, 2009)

Str. 15 autor uvádí:

„**Nyní, když** jsou představeny základní kroky glykolýzy se substráty a enzymy, **můžeme pokračovat s tím, co** ovlivňuje samotný průběh glykolýzy, a tedy i Warburgův efekt.“

Str. 16 autor uvádí:

„PK se v savcích organismech **nachází** ve čtyřech isoformách, jejichž geny se **nachází** na dvou chromosomech (1 a 15).“

Str. 24 autor uvádí:

„Jednotlivé části a komplexy OXPHOS a s ní spřaženého elektronové transportu mohou být inhibovány či funkčně pozměněny mnoha látkami organické či anorganické povahy (viz. Tab. 1) a ačkoli se nejedná o regulaci jako takovou, **experimentální využití je běžná záležitost.**“

Str. 35 autor uvádí:

„Vědci se dnes shodují, **že když** v minulém století začali zkoumat léčbu rakoviny, **byla chyba**, že se nezaměřili především na její původ a metabolismus.“

(3) Citace literárních zdrojů:

(A) V samotném textu práce jsou dlouhé pasáže bez uvedení zdroje informace.

Níže uvedený příklad:

„HK katalyzuje reakci prvního kroku glykolýzy, ale v běžných buňkách není její regulace hlavním kontrolním bodem metabolické dráhy glukosy. Je to především proto, že buňky jsou schopny získat velké množství G6P rozkladem glykogenu, a proto není třeba činnosti HK. Ve svazech se tento způsob zisku G6P využívá ve velkém, jelikož bez přítomnosti kyslíku je třeba získávat energii z glykolýzy, která se neobejde bez velkého množství glukosy získávaného z glykogenu. HK má i jiné role, např. v regulaci apoptózy nádorových buněk, jak bude popsáno dále. HK má vysokou afinitu ke glukose, což ji dovoluje iniciovat glykolýzu i za relativně nízké hladiny krevního cukru (glukosemie). HK je inhibována G6P, tedy produktem vlastní reakce. Jedná se o důležitý bod regulace, protože zabraňuje nadbytečné spotřebě buněčného ATP, které je nutné k tvorbě G6P, když množství glukosy není limitující. Specifická hexokinasa GK, nacházející se v játrech a pankreatických β buňkách, vyžaduje pro svou maximální aktivitu podstatně vyšší koncentraci glukosy, navíc GK není inhibována G6P.“

(B) V seznamu literatury chybí odkaz na citaci, která je uvedena v textu.

Níže uvedený příklad:

Str. 27: Mathupala *et al.*, 2010

(C) V seznamu literatury jsou citace, které chybí v textu bakalářské práce.

Níže uvedený příklad:

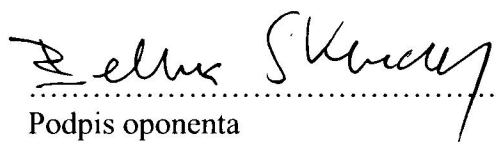
Derdák et al., 2006; Gomperts et al., 2002; Warburg O, 1956;

Seznam zkratek:

Autor uvádí pro F16P₂ zkratku fruktóza-1,6-bisfosfát, F26P₂ zkratku pro fruktóza-2,6-bisfosfát

- Jde o převzaté anglické názvosloví, které se v českém jazyce nepoužívá.
- V textu bakalářské práce se často vyskytuje přejímání anglických zkratek a termínů

V Brně dne: 4.6.2014


.....
Podpis oponenta