

Hodnocení disertační práce Ing. Kateřiny Veselé

„The study of molecular and biochemical basis of cytochrome *c* oxidase deficiency“.

Předkládaná disertace představuje výsledek výzkumu presentovaného ve 4 publikacích z let 2004-2008. Výzkumný tým na jehož práci se ing. Veselá podílela měl k dispozici soubor pacientů u nichž byla zjištěna porucha funkce mitochondriální cytochrom *c* oxidázy a cílem výzkumu bylo prozkoumat mechanismy, které jsou indukované různými mutacemi a které vedou k poruše funkce enzymu.

Autorka v obsáhlém úvodu popisuje nejnovější poznatky o energetickém metabolismu mitochondrií. Věnuje pozornost funkci respiračního řetězce a ATP syntézy. Podrobněji se zabývá strukturou a funkcí cytochrom *c* oxidázy a shrnuje současné poznatky o mutacích jaderné a mitochondriální DNA, které kodují biogenezu podjednotek enzymu i řady dalších bílkovinných komponent nezbytných pro asemblaci enzymového komplexu.

V úvodu k práci je diskutován také fakt, že tento výzkum se neobejde bez široké týmové spolupráce, která zahrnuje jak klinické pracovníky, tak i pracovníky z oblasti biochemie, molekulární biologie a genetiky a morfologie. Presentovaná práce tak navazuje na dlouholeté zkušenosti specializovaného pracoviště 1.LF UK zaměřeného na studium mitochondriálních onemocnění, které je diagnostickým centrem pro pacienty České a Slovenské republiky.

Autorka měla k dispozici soubor pacientů u nichž byla zjištěna porucha cytochrom *c* oxidázy, ale nebyl jasný mechanismus jejího vzniku. V posledních letech se objevily důkazy, že porucha funkce cytochrom *c* oxidázy může být důsledkem poruchy funkce asemblačních faktorů, které se podílejí na sestavování komplexu enzymu ze 13 podjednotek kodovaných jak jadernou tak mitochondriální DNA a syntetizovanými jak v cytosolu tak v mitochondriální matrix. Protože byla objevena celá řada faktorů podílejících se na sestavování cytochrom *c*

oxidázy ve vnitřní mitochondriální membráně bylo prvním cílem práce vybrat kandidátní geny a provést jejich screening u pacientů s prokázanou poruchou funkce cytochrom c oxidázy a zavést potřebné biochemické a molekulárně biologické metody. V další práci pak na souboru vybraných pacientů s prokázanou poruchou funkce enzymu a s prokázanými poruchami asemblačních faktorů bylo dalším cílem práce hodnotit na kterém stupni asemblace enzymových komponent lze lokalizovat jednotlivé defekty a hromadění neaseblovovaných komponent.

Jak dokumentuje předložená disertační práce i příložené publikace, byla získána řada poznatků jak o samotných mechanismech asemblace enzymu tak i příčinách poruchy enzymu vyvolaných poruchou funkce asemblačních komponent a hromaděním neaseblovovaných komponent.

K předkládané práci mám tyto připomínky:

-je škoda, že autorka neměla více času a možnosti korelovat poruchy asemblace s funkcí enzymu. Např. z hlediska nálezu Peciny et al. (2003) se ukazuje že u surf1 defektů je nízká aktivita enzymu spojena s jeho větší labilitou vůči detergentu, který je používán při kolorimetrickém stanovení aktivity. Je možné, že by se stejné vlastnosti vyskytovaly i v případě defektů v důsledku mutace jiných asemblačních faktorů? Bylo by zajímavé vědět zda tyto nálezy získané na fibroblastech platí i pro jiné tkáně, které vykazují vysokou specifitu poškození enzymu (viz Tab. 7).

- bylo by asi také zajímavé dozvědět se více o možnostech degradace neaseblovovaných komponent, jak se o tom také autorka zmiňuje.

-je také škoda, že autorka lépe „neprodala“ své výsledky, protože souhrny příložených publikací představují rozsáhlý seznam nálezů, které autorka v několikařádkovém závěru práce shrnula do 4 vět začínajících - better understanding.....- better understanding.....-better understanding.....-appropriate genetic counseling.....

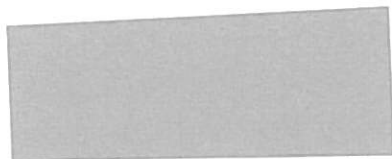
Neodpustil bych si také některé formální připomínky:

- abbreviations je lépe dát na začátek, než na konec práce.
- redaktoři v časopisech by asi také kritizovali, že někde je (Tab. X) jinde (tab. X), často je v anglickém textu místo desetinné tečky česká čárka, a několikrát autorka nepoužila (např. v chemických vzorcích) funkci dolní index, jinde funkci horní index (cm²).
- Specific aims na str. 32 mají body 1-5. Materials and methods mají Ad 1) a Ad 2), Results Ad 3) a Ad 4), ale Ad 5) jsem nenašel.
- Proč Ad 3) začíná Sco2 a pokračuje Sco1, zatímco Ad 4) začínají Sco 1 a pokračují Sco2?

Závěrem bych rád pochválil grafickou úpravu práce a angličtinu. Chvillemi jsem úvod četl jako beletrii, když jsem si nahlas recitoval : *COX is a place where electrons end its pilgrimate through the respiratory chain enzymes to find its final acceptor.*

Práce má vysokou metodickou úroveň, přináší řadu zajímavých nových poznatků, jak o tom svědčí čtyři publikace v renomovaných časopisech a je dobrým příkladem úspěšné spolupráce klinického a základního výzkumu.

Práci doporučuji k přijetí jako základ pro udělení vědecké hodnosti.



RNDr Zdeněk Drahoť, DrSc

V Praze dne 19.5. 2008