



Posudek habilitační práce

Název práce: Morfologické a funkční aspekty mitochondriálního póru přechodné permeability – optimalizace metod a jejich využití pro hodnocení funkčního stavu póru

Autor: RNDr. René Endlicher, Ph.D.

Oponentka: doc. RNDr. Lucie Zemanová, Ph.D.

Předložená habilitační práce RNDr. René Endlichera, Ph.D. je souborem 11 publikovaných prací s připojeným komentářem. Tyto práce byly publikovány autorem a jeho spolupracovníky ve vědeckých časopisech s impakt faktorem (mimo jednoho), často v časopise *Physiological research*. Předkladatel je v pěti případech prvním autorem.

V úvodu práce přináší Dr. Endlicher na 35 stranách literární přehled tématik týkajících se samotného mitochondriálního póru přechodné permeability (mPTP) a jeho role ve stárnutí či ve vybraných onemocněních. Samotné téma je poměrně komplikované, protože i po 70 letech výzkumu mPTP panuje ve vědecké komunitě řada dohadů a mnoho aspektů (včetně složení samotného póru) nebylo zatím spolehlivě zodpovězeno. I přesto se podařilo autorovi tématiku předložit oponentům či dalším čtenářům poměrně zdařilou formou. Občas je text obtížen až přílišnými detaily a opakování některých faktů.

Následující část je přehledem dosažených výsledků v uvedených publikacích s komentáři (17 stran). V této části autor popisuje vždy s poměrně obsáhlým úvodem zavedení metodik hodnocení funkce mPTP na pracoviště, jejich optimalizaci, zavedení nových přístupů vyhodnocení a dále vlastní výzkum různých faktorů, které otevírání mPTP ovlivňují. Předkládané práce se ve většině případů zabývají do hloubky zejména *in vitro* metodami stanovení funkce mPTP a její modulací na úrovni izolovaných mitochondrií (metoda bobtnání mitochondrií, stanovení retenční kapacity pro vápník). Někde je ale využito širší spektrum metod hodnotící funkci mitochondrií obecně (např. stanovení respirace pomocí Oxygraphu, stanovení mitochondriálního membránového potenciálu) a také složitější systémy než samotné mitochondrie (např. hepatocyty). Závěrem autor shrnuje znovu tématiku mPTP a jeho regulace.

Předložená habilitační práce je napsána dobrou češtinou s minimem překlepů či chyb. Jde o poměrně rozsáhlou práci, která jednoznačně ukazuje, že předkladatel Dr. Endlicher je erudovaný odborník v oblasti *in vitro* výzkumu mitochondrií s hlubokou orientací v dané tematice. Práce je založena zejména na experimentálním výzkumu, který významně rozšířil zejména znalosti o regulaci mPTP.



Připomínky:

Habilitační práce obsahuje 11 publikací, které jsou autorem komentovány (10 s IF). Bylo by vhodné v práci uvést jen jako seznam i další práce autora mimo habilitační práci pro vytvoření lepší představy oponenta o uchazeči. Databáze Pubmed přiřazuje autorovi habilitační práce 19 publikací, což lépe splňuje nároky habilitačního řízení než pouze 11 prací uvedených v habilitační práci.

U prací, které jsou součástí habilitační práce by bylo vhodné u hodnoty IF uvést rok, uvést zařazení časopisu mezi Q1-Q4 časopisy daného oboru, počet citací a zejména u každé z předkládaných publikací uvést podíl autora habilitační práce, který nelze na rozdíl od výše uvedených nedostatků nikde nalézt a který je důležitý pro posouzení přínosu a kvality uchazeče.

V práci je k literární rešerši a komentářům k dosaženým výsledkům uvedeno na 500 literárních zdrojů/vědeckých článků, což se mi zdá nadbytečné. Částečně to odpovídá i tomu, že práce je zatížena až nadbytečnými detaily a občas i částečně protichůdnými tvrzeními (např. informace o složení póru - jednou je uvedeno, že ATP syntasova teorie je vyvrácena, jinde je, že je platná). Habilitační práce by měla prokázat mimo vědeckých schopností uchazeče i schopnosti pedagogické, tedy přiblížit širší čtenářské obci vysoce odborné a složité téma srozumitelně, s lehkostí a nadhledem vystihnout podstatu tématu.

Ačkoliv práce obsahuje téměř 500 literárních zdrojů, často chybí recentní publikace z posledních let 3-5 let. Chápu použití historických pramenů (z 50.-70. let) v sekci 2.2 Historický pohled na mPTP, ale už ne tolik jejich použití v jiných kapitolách (např. 2.4 Faktory ovlivňující otevření mPTP či jinde), takové zdroje bych považovala za značně obsoletní. Pokud jsou jejich závěry správné a stále platné, tak jistě byly potvrzeny i v dalších, novějších studiích. Ačkoliv jsem to vzhledem k vysokému množství citací nezkoumala zcela detailně, rekla bych, že ve zdrojích převažují starší práce z cca z roku 1990-2010.

Komentáře k výsledkům jednotlivých publikací bych uvítala kratší a uvedené vždy pro jednotlivé publikace (nikoliv po tématech), kde by byly uvedeny pro každou publikaci ty nejdůležitější výsledky studie. Tak jak je uvedeno (po tématech, jen s uvedením „podrobněji viz příloha č. x“, často i více příloh – myšleno publikací), působí pro čtenáře málo přehledně a nutí ho do detailu pročítat publikace a hledat zmíněné výsledky.

Závěr je krátkým zopakováním tematiky mPTP a jeho regulace. Zde bych očekávala alespoň mírně kritické zhodnocení dosažených výsledků (jde „pouze“ o *in vitro* metodiky na izolovaných mitochondriích zvířat) a případně návrhy na vylepšení nebo rozšíření spektra metod, které by umožňovaly hodnocení diskutovaných faktorů na vyšších úrovních experimentálních modelů či zohledňovaly mezidruhové rozdíly.

Dotazy:

Z provedených experimentů i literatury je zřejmé, že otvírání mPTP je rozdílné u mitochondrií pocházejících z různých tkání, z tkání různého stáří atp. V práci jsem ale nenašla zmínku o tom, jakou roli může hrát roli způsob přípravy mitochondrií a jejich čistota? I v uvedených komentovaných pracích autora se příprava mitochondrií mírně odlišuje (rychlost centrifugace, homogenizátor) a to je v rámci jednoho výzkumného týmu, odlišnosti mezi různými laboratořemi budou daleko větší. Byla provedena/je popsána



nějaká studie zabývající se těmito aspekty? Jaké je například zastoupení lysosomů ve mitochondriální frakci při popsaném způsobu přípravy v laboratoři autora práce? Liší se mezi tkáněmi?

V práci (např. str. 16, str. 69) je uvedeno, že se uvažuje také o tom, že mPTP nemusí být konkrétní pór, ale nespecifický otvor či díra v mitochondriích. Jak by tato teorie konvenovala s mnohokrát potvrzeným faktem, že CypD je regulátorem mPTP?

Předposlední věta v závěru práce je „Měli bychom si proto uvědomit, že mnohem důležitější než hledat strukturu póru, je hledat mechanismy, které by mPTP vhodně inhibovaly a pomohly při léčbě nemocí spojených s jeho otevřením“. Já osobně s ní příliš nesouhlasím. Prosím autora o komentář, jakým způsobem se dají efektivně hledat mechanismy inhibice proteinu/proteinového komplexu, který je neznámý?

I přes některé uvedené připomínky má habilitační práce Dr. Endlichera dobrou úroveň a prokazuje, že její autor má hluboké znalosti ve studované oblasti a je schopen výsledky svého experimentálního výzkumu vhodně prezentovat. Doporučuji, aby byla předložená habilitační práce přijata jako podklad pro udělení vědeckopedagogické hodnosti docent podle příslušných předpisů Univerzity Karlovy a dalších právních předpisů a nařízení.

V Hradci Králové 2.1.2024

doc. RNDr. Lucie Zemanová, Ph.D.
*Vedoucí biochemické sekce
Katedra chemie
Přírodovědecká fakulta
Univerzita Hradec Králové*

