

Oponentský posudek disertační práce Mgr. Pavly Křivákové:

### **Hepatocyty jako modelový systém pro studium poruch energetického metabolismu**

Mgr. Pavla Křiváková vypracovala svou disertační práci na Ústavu fyziologie Lékařské fakulty v Hradci Králové pod vedením doc. MUDr. Zuzany Červinkové, CSc. Kolektiv tohoto pracoviště se problematikou související s játry a hepatocyty a zejména jejich energetickým metabolismem zabývá již dlouho a také úspěšně, o čemž svědčí celá řada publikací. Autorka svou disertační práci zaměřila na sledování poruch energetického metabolismu hepatocytů způsobené vlivem hepatotoxických látek a následně oxidačním stresem. Protože hlavním místem produkce kyslíkových radikálů jsou mitochondrie, zaměřila se také na ně.

Mgr. Pavla Křiváková získala celou řadu nových informací, které jsou shrnuty v deseti publikacích, z nichž dvě jsou připraveny do tisku a ve dvou pracích figuruje na prvním místě. Po formální stránce je disertační práce klasicky členěná na teoretický úvod, metodickou a výsledkovou část a diskusi

Teoretický úvod předkládané disertační práce představuje ucelený přehled zkoumané problematiky. Je přehledně rozdělen a seznamuje čtenáře s posledními poznatky na poli metabolismu hepatocytů, jejich úloze v detoxifikaci pro organismus škodlivých látek. Zasloučeně probírá vznik a úlohu volných kyslíkových radikálů i modely toxického poškození jater a hepatotoxické i protektivní látky. Celkově tato část svědčí o dobré orientaci autorky v problematice a zvládnutí teoretických základů. Metodická část vypovídá o tom, že autorka zavedla či ovládla celou řadu metod, které byly zcela adekvátní pro splnění vytyčených cílů. Souhrn výstižně prezentuje nejdůležitější výsledky a vhodně je dává do vzájemných souvislostí.

K práci mám několik připomínek, popřípadě dotazů:

Nejprve ty, které se týkají formální stránky. Práce obsahuje poměrně hodně překlepů, bez toho, abych je vyhledával, jsem jich napočítal téměř tři desítky a narazil jsem i na některé prohřešky proti českému pravopisu. Nepovažuji také za příliš vydařené některé obrázky v literárním přehledu, které jsou příliš malé a nepřliš ostré (např. obr. 12, nebo schéma na obr. 15). Zklamáním jsou ovšem obrázky 22 a 23 na straně 78 ve výsledkové části. Domnívám se, že alespoň každá trojice mikrofotografií by si zasloužila vlastní stránku a potom by i starší čtenář mohl rozeznat zvýšenou granulaci cytoplasmy, či mizející jádérka. Práce se také vyznačuje určitou redundancí některých tvrzení. Tento nešvar pravděpodobně souvisí s počítačem umožněnou funkcí „*copy & paste*“, takže informaci o tom, že „Za fyziologických podmínek se v buňce nachází více než 99% glutathionu ve formě GSH.“ se dozvíme třikrát (strany 39, 81, 107). Stejně to je s pasáží pojednávající o produkci ROS, kdy na stranách 33 a

113 se nachází stejný pětiřádkový text. Do druhého pětiřádku je pouze přidána citace *Drahota et al., 2002*, ze které však není uvedeno to hlavní, primární zjištění těchto autorů o podílu glycerolfosfát dehydrogenázy na produkci ROS. Na straně 43 se hovoří o „ne zcela fyziologickém stavu“, je tento stav nějak definován? Na straně 109 je v prvním řádku uvedena glutathion peroxidáza, pravděpodobně se jedná o reduktázu.

Dále bych měl několik otázek ke studované problematice:

1. Někteří autoři uvádějí mnohem nižší procento kyslíku účastníci se tvorby ROS, přibližně 0,2%, jaké jsou současné názory na velikost tohoto podílu. V jakém poměru je tBHP indukovaná produkce ROS k té basální?
2. Čím je způsobena vyšší citlivost Komplexu I k oxidačnímu poškození oproti Komplexu II? Vysvětlení na straně 110 mi nebylo příliš jasné, otevření PTP napřed závisí na protonovém gradientu, ale o dvě řádky níže nezávisí atd.
3. Jakou katalytickou funkci má kardiolipin (str. 110)?
4. Existuje nějaké funkční spojení mezi systémy odstraňujícími ROS a systémy, které produkují NADPH, tedy např. glukózo-6-P dehydrogenáza či NADP specifická isocitrát dehydrogenáza?

Výše uvedené výhrady či připomínky, však podle mého názoru nesnižují hodnotu předkládané práce a jsem přesvědčen o tom, že Mgr. Pavla Křiváková ve své disertační práci přináší celou řadu nových a významných zjištění, které jistě přispějí k hlubšímu pochopení detoxifikační funkce hepatocytů a mechanismu vzniku, působení a odstraňování volných kyslíkových radikálů. Tyto výsledky mají podle mě i důležitý klinický význam, neboť v současné době, kdy jsme obklopeni nejrůznějšími toxickými substancemi přinášejí solidní informace o možnostech hepatoprotekce pomocí chemických látek.

A ještě poznámka na okraj. Kromě celé řady jiných věcí mě v této práci potěšilo svěží a milé úvodní poděkování. Původně jsem přemýšlel o tom, že závěrečnou formuli napíši také morseovkou, ale protože si ke každému písmenu musím přeříkat všechny ty *dálavy, cílovníky a junácké hole*, zvolil jsem nakonec tradiční formu. Takže tedy:

Mgr. Pavla Křiváková ve své disertační práci prokázala, že je schopna samostatné vědecké práce a doporučuji proto, aby jí na jejím základě byla udělena vědecká hodnost PhD.

V Praze, dne 15. 11. 2006

RNDr. Martin Kalous, CSc.