

Oponentský posudek na disertační práci Mgr. Pavly Křivákové
„Hepatocyty jako modelový systém pro studium poruch energetického metabolismu“.

Cílem disertace (str. 53) bylo zejména sledování spotřeby kyslíku izolovaných hepatocytů a membránového potenciálu jejich mitochondrií po ovlivnění energetického metabolismu modelovou látkou butylhydroperoxidem. Laboratoř školitelky má dlouhodobé zkušenosti s hepatocyty, s poškozením a regenerací jater. Přesto autorka disertace musela zavést některé nové metody: měření spotřeby kyslíku hepatocytů a mitochondrií Gnaigerovým oxygrafem, „studium změn“ mitochondriálního membránového potenciálu a měření mitochondriální produkce reaktivního kyslíku měřením fluorescence zvolených fluoroforů a tetrafenylfosfoniových iontů iontově selektivní elektrodou.

Princip měření spotřeby kyslíku je ve spise dobře vysvětlen (úbytek O_2 v uzavřeném prostoru spotřebou biologickým materiálem). Chybí pouze konkrétní popis důležité kalibrace (pochybují, že nulový pO_2 získala autorka tak, že „...nechala buňky, event. mitochondrie v uzavřené komůrce vydýchat veškerý kyslík“ (str. 74) : obdobně chybí zpracování signálu pro 100% saturaci kyslíkem.)

Na rozdíl od dobře vystiženého principu měření spotřeby kyslíku, postup k získání hodnoty mitochondriálního membránového potenciálu, a zejména pokus o její vyčíslení, ve spise postrádám. Autorka by neměla být macešská ke své předchozí chemické erudici a k fyzice. $\Delta\mu H^+$ není elektrochemický gradient protonů (str. 7). Diferenciální kvocient, který zbyde z totálního diferenciálu Gibbsovy energie za konstantní teploty a tlaku, nazval Gibbs chemickým potenciálem a označil jej symbolem „ μ “. $\Delta\mu H^+$ je tedy rozdíl chemického potenciálu protonů. Gradient značený symbolem „*grad*“ bude nějaký vektor. Stejnému symbolu $\Delta\mu H^+$ ale autorka přiřkla na str. 27 význam elektrochemického potenciálu, no a aby přivedla čtenáře ke konečnému zoufalství, elektrochemickému potenciálu na str. 67 přiřazuje symbol $\Delta\tilde{\mu}_{H^+}$ a chápe jej jako MMP. Definice elektrochemického potenciálu na 1. řádce následující str. 68 je v podstatě přijatelná, ale že si rozumíme by bylo zřejmé, kdyby se pokusila o explicitní vyjádření MMP. Pak by ale každopádně MMP nebyl elektrochemický potenciál $\Delta\tilde{\mu}_{H^+}$, ale v jejím značení by to byla $\Delta\psi_m$, kterážto hodnota by se jí měla pohybovat, jak uvádí na téže straně, v rozmezí -120 až -180 mV.

Výsledky o toxickém účinku tBHP, a o protektivním vlivu SAME jsou uvedeny úpravně a přehledně. Sumárně výsledky splňují vytčené cíle práce a svým rozsahem bohatě splňují požadavky, obecně kladené na PhD disertaci. Jsou výstižně shrnuty v Závěru práce. Body 11, 12 a 13 do Závěru experimentální práce nepatří.

Spis je úhledný, prokazuje pracovitost a příjemné intelektuální zázemí autorky. Pokud jde o formální drobnosti, některé jsou přijatelné a svědčí o samostatnosti mladé autorky (např. citace Ulrich et al., 1995 u myšlenky, že výběr experimentálního objektu záleží na konkrétním řešení problému-str. 43), některé se vloudily omylem.

Shrnuji, že oponovaný spis je pěkným zpracováním úspěšné experimentální práce, rozsahem přesahující požadavky kladené na disertaci, a proto jej doporučuji oborově radě k přijetí.

V Praze dne 16. 11. 2006

Prof. Jiří Mejsnar
3. LF UK Praha