



# UNIVERZITA KOMENSKÉHO V BRATISLAVE

## Prírodovedecká fakulta

Katedra biochémie

Mlynská dolina  
842 15 Bratislava 4

Tel.: 02 / 602 96 539  
Fax: 02 / 602 96 452  
e-mail: kolarov@fns.uniba.sk  
<http://www.fns.uniba.sk/~kbi>

### Oponentský posudok na doktorandskú prácu Tomáša Mráčka „Sites and consequences of mitochondrial ROS production“

Doktorandská práca Tomáša Mráčka sa mi veľmi páčila, a bolo pre mňa potešenie prečítať si ju. Je napísaná v anglickom jazyku, vo veľmi dobrom štýle, a preto odpadla povinnosť oponenta hodnotiť jazykovú stránku a vytýkať gramatické chyby, a to aj z toho dôvodu, že Tomášova angličtina podľa predloženého spisu je lepšia ako moja.

Práca je veľmi dobrá ako po formálnej, tak aj po obsahovej stránke. Predstavuje presne taký spis, aký občas máme možnosť obdivovať v rámci obhajoby PhD téz študentov významných európskych univerzít a inštitúcií - krátky úvod jasne formulujúci konkrétny vedecký problém, vyhranený a dostatočne kritický postoj autora, namiesto jednotvárneho vymenovanie výsledkov veľkého počtu iných tímov, snahu postaviť vlastnú hypotézu a následne kriticky hodnotiť získané súhlasné a protichodné výsledky. A hlavne, získané výsledky sú súčasťou pripojených 8!! vedeckých publikácií, z ktorých je väčšina publikovaná v renomovaných medzinárodných vedeckých periodikách. Na troch z nich je Tomáš prvým autorom, čo spolu s predkladaným kvalitným spisom svedčí o jeho schopnosti samostatne vedecky pracovať.

Ďalším dôvodom, prečo sa mi práca páčila je, že sa týka veľmi aktuálneho problému, ktorým je produkcia voľných kyslíkových radikálov v mitochondriách a vzťah ich zvýšenej produkcie k mitochondriálnym chorobám.

Hlavné ciele projektu sú jasne definované: i) zistiť aká je úloha mGPDH v mitochondriálnej produkcii kyslíkových radikálov a ii) vymedziť účasť kyslíkových radikálov v etiológii ľudských mitochondriálnych chorôb a obzvlášť v tých, ktoré majú defekt v mitochondriálnej ATP syntáze. Podarilo sa ukázať, že mGPDH, ktorej obsah značne varíruje v rôznych tkanivách môže byť veľmi serióznym ďalším zdrojom reaktívnych kyslíkových druhov (ROS) v respiračnom reťazci, a to najmä v bunkách s vysokou respiračnou kapacitou, a so zvýšeným obsahom enzýmu. Bolo by iste zaujímavé ďalej overiť autorov predpoklad, že takto produkované ROS v BAT slúžia k indukcií apoptózy, ktorá by mala následne tieto bunky eliminovať. Vzniká však otázka či nie sú ROS efektívne eliminované tým, že tieto bunky vykazujú veľmi vysoký obsah odpríahujúceho proteínu (UCP) v mitochondriách? V súvislosti s vyslovenými predpokladmi by som sa rád dozvedel na základe akých experimentálnych údajov sa autor domnieva, že mechanizmus mGPDH-indukovanej tvorby ROS je odlišný, a nesúvisí s hyperpolarizáciou mitochondriálnej membrány.

V ďalších prácach je kladený doraz na ROS ako patogénny faktor ľudských syndrómov, ktoré sú indukované mutáciami v genoch kodujúcich mitochondriálnu ATP syntázu. V súlade so závermi autorov, ktorí študovali iné mitochondriálne ochorenia (vid' napr. D. Wallace) Tomáš a spolupracovníci vyslovujú názor, že aj v prípade miopatií spôsobených defektmi v mitochondriálnej ATP syntáze, je následná produkcia ROS zvýšená a môže byť dôležitým faktorom v patogenéze tohto syndrómu. Avšak, aj v tomto prípade je veľmi ťažko posúdiť čo je príčina a čo konsekvencia. Rád by som počul Tomášov názor na túto otázku. V súvislosti s vysokou hladinou ROSu aj pacientov s ATPázovým defektom (týka sa to aj defektov v ANT)

ma zaujíma, či sa paralelne objavujú aj rôzne apoptotické markery, a či u týchto pacientoch pozorované chorobné stavy súvisia so zvýšenou apoptózou?

Ďalším veľmi zaujímavým, a zároveň v tejto súvislosti pre mňa prekvapujúcim zistením je, že ak vychádzame zo zistenia obsahu ATP syntázy vo fibroblastoch študovaného pacienta, pre bazálny priebeh metabolických pochodov je postačujúca menej ako 20% kapacita ATP syntázy. Podľa môjho úsudku tento fakt si vyžaduje podstatne dlhšiu diskusiu aká je v priložených publikáciách. Sú stechiometrické pomery medzi jednotlivými komplexmi respiračného reťazca ATP syntázou a ANT zachované v mitochondriách pacienta?

Ďalej veľmi kladne hodnotím aj prácu, ktorá bola len zaslaná na publikovanie, a ktorá má predovšetkým metodologický charakter. V odbornej literatúre nie je možné zatiaľ ľahko identifikovať vhodnú univerzálnu metódu pomocou ktorej by sa mohla spoľahlivo sledovať hladina ROS v bunkách. Zdá sa, že pripravovaný pre publikáciu článok poskytne nie len veľmi užitočné porovnanie jednotlivých prístupov ale aj návrh pre hodnotenie hladiny mitochondriálne produkovaných ROS na báze citlivosti k odpojovacom.

Tak ako každá dobrá práca, aj práca Tomáša evokuje početné otázky. Pokúsim sa položiť niektoré priamo pri obhajobách.

Záverom rád konštatujem, že Mgr. Tomáš Mráček vypracoval veľmi kvalitnú doktorandskú dizertačnú prácu. Preukázal, že ovláda početné moderné laboratórne techniky pomocou ktorých, spolu s kolektívom v ktorom pracoval, získal celú radu nových dôležitých vedeckých výsledkov. O ich kvalite svedčia mnohé publikácie v ktorých je Mgr. Tomáš Mráček spoluautorom. Vzhľadom na ich prínos pre rozvoj vedy, a vzhľadom na ich vysokú kvalitu odporúčam aby Mgr. Tomášovi Mráčekovi bol po úspešnej obhajobe dizertačnej práce udelený vedecko-akademický titul PhD.

V Bratislave, 12.10.2006

  
Prof. Jordan Kolarov DrSc.