

## **Hodnocení disertační práce Mgr. Petry WASKOVÉ:**

### **„Úloha mitochondriální kreatinkinázy a hexokinázy v mechanismech kardioprotektivního působení chronické hypoxie.“**

Předkládaná disertační práce je zaměřena na velmi důležitou oblast studia mechanismů, které se podílejí na rozvoji patologických procesů, jejichž důsledkem je infarkt myokardu. Cílem tohoto výzkumu je pak hledat cesty, jak srdeční sval ochránit před nejrůznějšími patologickými podněty a jak zvýšit odolnost myokardu vůči jejich působení.

Význam této problematiky lze dokumentovat tím, jak v posledních letech stoupá ve světové literatuře počet prací, které se této problematice věnují. Přes to přehledné články z poslední doby končí prohlášením, že stále zůstává mnoho nevyřešených problémů vzhledem k tomu, o jak složitý proces se jedná. Těžiště výzkumů se v současnosti přesunuje do oblasti bioenergetiky, což lze dokumentovat tím, že časopis „Journal of Molecular and Cellular Cardiology“ vydal speciální číslo s názvem „Mitochondria“.

Předností předkládané disertace je, že si vyčlenila z široké oblasti buněčné bioenergetiky oblast, která je zvláště významná pro myokard vzhledem k jeho specifické fyziologické funkci, že totiž musí po celou dobu existence organismu pracovat. V této oblasti pak hrají hlavní roli kreatin kináza a hexokináza.

Předkládaná disertace je monumentálním dílem o 20ti stranách číslovaných latinskými číslicemi a 192 stranách číslovaných číslicemi arabskými a to vše je 200 stran v angličtině.

Práce obsahuje rozsáhlý (80 stran) přehledu publikovaných nálezů týkajících se Energetického metabolismu myokardu, Kreatin kinázy, Hexokinázy, Hypoxie a Kardioprotektivních mechanismů. Dále pak 15 stran metod. Následuje poněkud netradičně koncipovaných 25 stran výsledků, rozčleněných do STUDY 1-3. Každá z nich obsahuje kapitoly: Introduction, Results a Conclusion. Pak následuje 10 stran diskuse k jednotlivým STUDY a závěrečné Conclusion. Na konci je 60 stran literárních citací. Takže předkládaná práce má vlastně formu siamských dvojčat. To první z nich představuje kvalifikovaný souhrn informací o kreatinkináze, hexokináze, o ischemickém poškození myokardu, o procesech probíhajících v myocytech při hypoxii a o mechanismech kardioprotekce. To

druhé pak představuje vlastní experimentální studii zaměřenou na tři vytyčené oblasti: 1. Srovnání aktivity CK-HK a exprese isoform v levé a pravé komoře myokardu za normoxie, 2. Vliv normobarické hypoxie a ischemicko-reperfučního poškození na expresi a aktivitu isoform kreatinkinázy a hexokinázy, 3. Vliv hypobarické hypoxie na expresi a aktivitu isoform kreatinkinázy a hexokinázy včetně kolokalizace s mitochondriemi.

Vlastní experimentální práce je založena na širokém souboru metod z oblasti fyziologie, biochemie a molekulární biologie a imunofluorescenční analýsy.

Výsledky první studie doplňují již prokázané rozdíly mezi levou a pravou komorou a na základě hodnocení množství HK1 a HK2 ukazují, že pravá komora má vyšší aktivitu anaerobní glykolyzy a je schopna tak rychleji odpovídat na stresogenní podněty.

Druhá studie je zaměřena na vliv normobarické hypoxie a prokazuje rozdíly především u kvanta a aktivit hexokináz což může stimulovat činnost mitochondriálního řetězce a snižovat tvorbu ROS.

Třetí studie pak prokazuje vzestup kreatin kinázové aktivity po intermitentní hypoxii i vzestup mitochondriální hexokinázy 1 a 2. Získané výsledky ukazují, že zvýšená aktivita systému kreatin- fosfokreatin a anaerobní tvorby ATP mají významnou roli v kardioprotektivním působení intermitentní hypoxie.

**Tyto tři studie představují obsáhlý soubor výsledků získaných širokým spektrem metodik. Získané výsledky jsou prezentovány přehlednými grafy a jednotlivé rozdíly jsou statisticky vyhodnocovány a kvalifikovaně diskutovány.**

**Po odborné, metodické a formální stránce předkládaná práce splňuje požadavky kladené na disertační práci a dokazuje schopnost autorky samostatné vědecké práce.**

**Doporučuji proto, aby na podkladě této disertace byl Mgr. Petře Waskové udělen vědecký titul.**

K předkládané práci mám jen několik drobných formálních připomínek:

- za úvahu stojí, zda by přece jen nebylo vhodnější tuto inovativní formu disertace, jejíž pouhé přečtení je pro recenzenta stresujícím faktorem, rozdělit do dvou spisů: (a) disertaci, (b) Review article.

- bude-li autorka uvažovat o sepsání přehledného článku doporučoval bych vyzdvihnout, že CK/HK sice nejsou pro srdce centrem bioenergetiky myokardu a tvorby ATP, protože 90% potřebného ATP vyrobí systém oxidační fosforylace (viz. Fig. 6 na str. 43), ale že představují významný mechanismus zajišťující specifickou fyziologickou funkci srdečního svalu – nezbytnost neustálé pracovní činnosti a navíc, že vhodnou stimulací tohoto systému lze myokard ochránit před stresogenními faktory.
- V abstraktu by asi bylo vhodné zmírnit nebo upravit formulaci, že kreatin kináza a HK jsou hlavní kandidáti antioxidantní ochrany vůči působení ROS.
- asi by bylo vhodné přidat seznam používaných zkratk, nebo alespoň je v textu podrobněji popsat (např. v Tab. 30, kde je uvedeno KN, IN, IRN, KH, IH, IRH).
- také bych doporučoval nenazývat homogenátem suspenzi mitochondrií jen pro to, že mitochondriální pelet po centrifugaci byl suspendován pomocí homogenizeru (str. 91).