

Oponentský posudek dizertační práce s názvem

Farmakologické a metabolické ovlivnění funkce jaterních mitochondrií

autora MUDr. Ondřeje Sobotky

Přeložená dizertační práce se zabývá velmi aktuálními tématy a její výsledky považuji za cenné pro další klinicky zaměřené studie v této oblasti. První část práce vyplnila důležitý prostor týkající se vlivu látek s protinádorovým účinkem na mitochondriální funkce jaterní tkáň. Druhá část dizertační práce sledovala funkci jaterních mitochondrií pod vlivem vysokotukové diety na modelu jaterní steatózy.

Obsah práce: Práce je psána klasickým způsobem velmi přehledně a čtivě. Její rozsáhlý literární přehled (54 stran) pokrývá metabolickou funkci jater a její regulace, stručně a výstižně popisuje metabolické dráhy mitochondrií a dává je do souvislosti s mitochondriální biogenezí a apoptózou. Na to navazují mechanismy působení 3-Bromopyruvátu (3BP) s α -Tokferylsukcinátu (TOS) spolu s klinickým využitím. Dále následuje kapitola shrnující epidemiologii, příčiny a patofyziologii nealkoholové jaterní steatózy. Literární úvod uzavírají recentní poznatky o dynamice mitochondriálního retikula v souvislosti s inzulínovou rezistencí a steatózou jater, které naznačují, že informace o mitochondriální respiraci v těchto patologických stavech nejsou zdaleka známy. V práci byla úspěšně použita široká škála metod z oblastí biochemie, buněčné biologie, kvantitativní fluorescenční mikroskopie i fluorometrie až po metody oxygrafické. Metody jsou v práci přehledně popsány. Výsledky jsou psány systematicky stručně a jasně, doplněny 22 grafy a vhodnými obrázky. V Diskuzi se autor zabývá významem dosažených výsledků a vhodně je zasadil do současného poznání.

Dosažené výsledky: Experimentální studie byly zaměřeny na analýzu vlivu látek s protinádorovým účinkem, hydrofilního 3-BP a lipofilního TOS, na mitochondriální funkce u primární kultury permeabilizovaných hepatocytů a izolovaných mitochondrií. V testování toxicity 3-BP a TOS byly sledovány vhodně zvolené parametry mitochondriální respirace s použitím aktuálních referenčních protokolů. Byly nalezeny změny mitochondriálního membránového potenciálu a míry oxidativního stresu na více úrovních včetně markeru aktivace apoptózy. Byly stanoveny koncentrace a doba působení u obou látek, které vyvolávají toxický účinek na výše uvedených modelech, tyto výsledky mohou být přímo využity pro další preklinické studie. Spolu s tím byly stanoveny rozdíly v toxickém působení obou látek, které vyplývají z jejich chemické povahy. V tematicky druhé části práce byl úspěšně zaveden model jaterní steatózy, na kterém byly stanoveny respirační parametry u izolovaných mitochondrií. Významný rozdíl byl nalezen po prvním týdnu krmení vysokotukovou dietou na úrovni 13-oxidace a celkové respirační kapacity, tento rozdíl v průběhu chronického pokusu vymizel.

Připomínky: Výsledky studií před publikováním prošly náročným recenzním řízením v redakční radě časopisů a nemám k nim žádné závažné připomínky.

Závěrečné hodnocení: Předložená dizertační práce řeší vysoce aktuální problematiku s klinickým významem. Práce byla vypracována na pracovišti, které se dlouhodobě zabývá problematikou jaterní tkáně a s tím souvisí velmi čisté experimentální zadání jednotlivých studií a široká škála použitých metod. Práce je zpracována a sepsána velmi přehledně a svědčí o výborné orientaci autora v zadaném tématu. Celkově má dizertační práce velmi dobrou úroveň a závěry práce vyplývající z výsledků, jsou věcně a dostatečně diskutovány. Dosažené výsledky jsou součástí dvou originálních publikací v časopisech s IF, u nichž je doktorand prvním autorem, čímž prokázal schopnost samostatné vědecké práce. Dále je doktorand spoluautorem dalších čtyř publikací s IF.

Předložený spis MUDr. Ondřeje Sobotky splňuje požadavky kladené na dizertační práci, a proto doporučuji práci přijmout k obhajobě a kladné vyřízení žádosti o přiznání akademického titulu „philosophiae doctor“ (Ph.D.).

Otázky do diskuze

1. Ve své práci zmiňujete, že nové názvosloví pro popis stavů mitochondriální respirace zavedené prof. Gnaigerem je výhodnější než původně používaná terminologie. Jaké spatřujete výhody v tomto novém názvosloví proti přechozímu? Uvažoval jste o českém ekvivalentu u nového názvosloví, který by lépe vystihoval dané stavy v českém jazyce?
2. Existuje nějaké vysvětlení pro skutečnost, že hmotnost zvířat krmených vysokotukovou dietou vzrůstá v průběhu prvních 6 - 12 týdnů experimentu pomaleji než u kontrolních zvířat?
3. Jak si vysvětlujete pokles mitochondriální respirace v játrech po 6. týdnu podávání vysokotukové diety? Spatřujete nějakou souvislost mezi poklesem respirace v tomto týdnu a významným rozdílem v hmotnosti zvířat ve srovnání s kontrolami? Existují údaje o celkovém metabolickém obratu na tomto modelu v odpovídajících časových obdobích?
4. Srovnajte prosím, na základě Vašich zkušeností, citlivost a využití fluorescenčních sond JCI a Safraninu O při měření mitochondriálního membránového potenciálu u jaterní tkáně.

V Praze dne 28. července 2017

RNDr. Jitka Zurmanová, Ph.D.

Katedra Fyziologie
Přírodovědecká fakulta UK Praha
Email: jitka.zurmanova@natur.ctmi.cz
Tel: +420 221951790