

**Oponentský posudek na doktorskou disertační práci Mgr. Aleny Vojtíškové
„Application of biophysical methods for functional studies of defects of mitochondrial
energy transformation“**

Předkládaná práce se týká velmi aktuálního tématu – patologických důsledků nedostatečné funkce mitochondrií. Skládá se z celkem 45 stran úvodního textu, 10 stran citací, a její součástí jsou separáty 7 odborných článků v mezinárodních časopisech, na nichž je disertantka jako spoluautorka - ve dvou případech je první autorkou. Časopisy mají vesměs velmi dobrou úroveň (IF) a tedy i náročné recenzní řízení, takže kvalita dosažených výsledků je velmi dobře dokumentována. Práce je napsána v angličtině, a její jazyková úroveň je až na drobnosti velmi dobrá. Práce představuje multidisciplinární přístup zahrnující biofyziku, molekulární biologii a medicinu. Psát práce s takto širokým záběrem není snadné, a disertantka se úkolu zhostila úspěšně.

Úvodní část postupně přechází od shrnutí obecných vlastností membrán a jejich bioenergetického významu k funkci mitochondrií v buňce, jejich fyziologii a jejich úloze, kterou mitochondriální defekty různých typů mohou hrát v patologických stavech. Poslední část je věnována metodickým aspektům měření membránového potenciálu mitochondrií různými metodami. Po ní následuje souhrn cílů práce a stručný souhrn dosažených výsledků.

Stěžejním bodem bylo měření membránového potenciálu mitochondrií postižených patologickými stavů - defektem v cytochrom oxidase způsobeným mutaci v genu SURF1, dysfunkcí ATPasy způsobenou mutací v mtDNA nebo nDNA, a změnami v biogeneze mitochondrií v nádorových buňkách. Byla vyvinuta fluorometrická metoda, která umožňuje kalibrovat mitochondriální membránový potenciál v absolutní stupnici (mV). Dále práce ukázala, že snížené množství COX v mitochondriální membráně vede ke snížení schopnosti transportu protonů, a tím i ke snížené schopnosti udržovat $\Delta\psi_m$ při funkční zátěži. Bylo ukázáno, že snížená schopnost mitochondrií využívat $\Delta\psi_m$ způsobená defekty v F₁F₀-ATPase má podobně negativní vliv na buněčnou energetiku. Přitom disertantka mimochodem dokázala najít pozitivní vyústění negativního výsledku - absence vlivu změn v iniciačním kodonu genu ATP6 pro protonový kanál ATPasy na $\Delta\psi_m$, a následně spolu se spolupracovníky prokázala zásadní vliv změn ve stop kodonu tohoto genu na využívání $\Delta\psi_m$. Další výsledky ukázaly propojení mezi sníženou produkci membránové ATPasy, $\Delta\psi_m$ a mitochondriální produkci ROS.

K práci mám jen formální připomínky. Jedna z nich se týká angličtiny a půvabu nechtěného – v práci o produkci a využívání energie buňkami resp. mitochondriemi je místo správného „cytosolic“ použito slovo „cytosolar“. Jak jsem už konstatoval, napsat koherentní úvod k takto mnohooborové práci není snadné, nicméně bych uvítal plynulejší propojení mezi jednotlivými částmi úvodu. Postrádal jsem také detailnější rozbor mitochondriálního transportu kationtů (sekce 1.3.3.1), který je ve srovnání s ostatními částmi poněkud „ošizen“, zejména proto, že hraje v tvorbě a udržování $\Delta\psi_m$ důležitou úlohu.

V závěru mohu konstatovat, že disertační práce Mgr. Aleny Vojtíškové má velmi dobrou úroveň a je ji možno použít jako podklad pro obhajobu a získání titulu PhD.

Ing. Karel Sigler, DrSc

Praha, 14.3.2006