

Oponentský posudek disertační práce Mgr. Hany Štufkové

Molekulární podstata deficitu F_1F_0 -ATP syntázy a jeho dopad na energetický metabolismus buňky

Molecular basis of deficit of F_1F_0 -ATP synthase and its impact on energy metabolism of a cell

Studijní program: Biomedicína

Studijní obor: Biochemie a patobiochemie

Autor: Mgr. Hana Štufková

Školitel: Ing. Markéta Tesařová, Ph.D.

Konzultant: prof. MUDr. Tomáš Honzík, Ph.D.

Oponent: prof. MUDr. Jitka Kuncová, Ph.D.

Disertační práce pojednávající o molekulárních aspektech nedostatku F_1F_0 -ATP syntázy a jeho vlivu na buněčnou bioenergetiku byla vypracována na Klinice pediatrie a dědičných poruch metabolismu 1. LF a VFN v Laboratoři pro studium mitochondriálních poruch pod vedením školitelky Ing. Markéty Tesařové, Ph.D. Zvolené téma práce je velmi aktuální, a navazuje na dlouhodobé zaměření školitelského pracoviště na diagnostiku a výzkum poruch mitochondriálního energetického metabolismu, dědičných poruch glykosylace a dalších vybraných dědičných onemocnění.

Práce má celkem 202 stran, vlastní text včetně literárních odkazů je na 106 stranách a zbytek je sestaven ze 7 příloh (5 již publikovaných článků a 2 manuskriptů připravených k odeslání), na nichž je disertační práce založena. Úvodní literární přehled shrnuje na 34 stranách základní znalosti o struktuře a funkci mitochondrií, podrobněji pojednává o komplexech respiračního systému a detailně popisuje strukturu, funkci a biogenezi komplexu V, na který je disertační práce zaměřena. Cenná je kapitola o mitochondriálních poruchách, která by si po úpravách zasloužila samostatnou publikaci určenou pro postgraduální vzdělávání lékařů nezabývajících se rutinně problematikou vrozených poruch metabolismu. Cíle práce jsou ambiciózně, ale jasně stanovené. Metody jsou popsány stručně, ale dostatečně s ohledem na jejich podrobný popis v přílohách. Studentka jasně deklaruje, na kterých částech publikovaných prací se osobně podílela. V průběhu studia si osvojila celou řadu mikroskopických, imunoanalytických a molekulárně biologických metod a práci s tkáňovými kulturami.

Disertační práce je koncipována jako komentovaný souhrn článků, které byly publikovány v poměrně dlouhém období posledních 12 let. Je proto chválné, že autorka práce v diskusi zmiňuje i zcela nové poznatky, které na komentované články navazují, a uvádí i literární zdroje, jejichž závěry se od jejích vlastních odlišují. V prvních dvou částech výsledků a komentářů se autorka věnuje asemblačnímu faktoru ATP syntázy *TMEM70* od jeho základní charakteristiky (struktury, importu, lokalizace a funkce) až k analýze tkání pacientů postižených konkrétní mutací genu *TMEM70*. Ve zbývajících publikacích se zabývá zejména expresí respiračních komplexů u pacientů s mutacemi genu *MT-ATP6* a dalších genů, na jejichž expresi je přímo nebo nepřímo závislá správná funkce mitochondriálního respiračního systému.

Autorka disertační práce svými výsledky dokazuje, že je schopná řešit nejen problematiku

základního výzkumu, ale také se podílet na podrobné charakteristice konkrétních genových mutací souvisejících s buněčnou bioenergetikou. Výzkum proteinu TMEM70 předcházela pozdějšímu objasnění jeho funkce, popis důsledků mutací některých mitochondriálních a nukleárních genů přispívá k rozšíření znalostí klinického a biochemického obrazu těchto poruch a má tak přímý vztah k jejich podrobnější diagnostice a odhadu prognózy.

Disertační práce je po formální stránce dobře zpracována, drobné překlepy nejsou překážkou porozumění textu. V literárním přehledu opakovaně píšete o produkci energie v mitochondriích, vhodnější bylo použít termínu přeměny energie nebo jen syntézy ATP. Na straně 75 uvádíte, že do současnosti bylo popsáno 28 patogenních variant genu *MTTK*, ale odkazujete na práci publikovanou před 10 lety. V uspořádání práce bych dala přednost zařazení příloh před příslušné souhrny a komentáře, umožnilo by to plynulejší čtení disertace.

K práci nemám žádné závažné výhrady, pro objasnění některých souvislostí si dovoluji položit jen 3 doplňkové dotazy.

1. I když se měřením mitochondriální respirace nebo spektrofotometrickým stanovením aktivity mitochondriálních enzymů přímo nezabýváte, píšete opakovaně o funkci respiračních komplexů a kompenzačním zvýšení aktivity OXPHOS. Z jakých konkrétních výsledků tyto závěry vyplývají a jaké metody byly použity pro jejich získání?

2. Měřili jste intenzitu glykolýzy a produkci laktátu u některých z Vámi uváděných poruch mitochondriálního metabolismu?

3. Na straně 43 uvádíte, že u některých pacientů s mutací genu *TMEM70* dochází po překonání kritického postnatálního období ke zlepšení metabolických a srdečních poruch. Existuje nějaká teorie, která by toto zlepšení vysvětlovala?

Mgr. Hana Štufková předkládá k obhajobě kvalitní disertační práci, která přináší výsledky, z nichž většina již byla publikována v renomovaných mezinárodních časopisech. Kromě publikací, na nichž je práce založena, se autorka podílela na 8 dalších původních článcích vydaných kontinuálně v průběhu let 2014 – 2021. Práce byly téměř 100× citovány (WoS), což také svědčí o schopnosti autorky samostatně vědecky pracovat a výsledky své práce odpovídajícím způsobem uplatnit. Závěrem lze konstatovat, že předložená disertační práce splnila svůj cíl.

Na základě výše uvedených skutečností doporučuji udělit Mgr. Haně Štufkové akademický titul „Ph.D.“ za jménem.

UNIVERZITA KARLOVA
Lékařská fakulta v Plzni
Ústav fyziologie
323 00 Plzeň, alej Svobody 76

prof. MUDr. Jitka Kuncová, Ph.D.
Ústav fyziologie
Lékařská fakulta v Plzni
Univerzita Karlova
alej Svobody 76
323 00 Plzeň

V Plzni, dne 10. ledna 2023.

