

Posudek oponenta rigorózní práce

Jméno a příjmení uchazečky : **Mgr. Kristýna Kožichová**

Název práce: **Proteinkinasa C ϵ a δ v chronicky hypoxickém myokardu**

Rigorózní práce Mgr. Kristýny Kožichové řeší zajímavou a z biomedicíálního hlediska i velmi důležitou problematiku kardioprotektivního účinku chronické hypoxie. Konkrétně se uchazečka zabývala rolí dvou isoform proteinkinasy C, isoformou ϵ a δ , v adaptaci na chronickou hypoxii způsobenou dlouhodobým pobytem v hypobarické komoře. Předkládaná rigorózní práce byla vypracována jako součást tří grantových projektů, jmenovitě GAČR číslo 305/07/0875, GAUK číslo 97908 a MŠMTČR číslo MSM0021620858.

Z rigorózní práce je patrné, že se autorka zhostila řešení zadané problematiky úspěšně. Mgr. Kristýna Kožichová se seznámila s řadou technik, které se při práci v biologické a fyziologické laboratoři často používají jako např. manipulace s modelovými organismy – potkani kmene Wistar, imunoflorescenční mikroskopie, elektroforesa, western blotting s imunochemickou detekcí atd. Výsledky předkládané práce byly publikovány v odborném zahraničním recenzovaném periodiku – „Molecular and Cellular Biochemistry“ s IF2010=2.168, jako součást publikace kolektivu autorů. Uchazečka je spoluautorkou dané publikace. Konkrétně se jedná o následující originální odborné sdělení: Hlaváčová M, Kožichová K., Neckář J., Kolář F., Musters R. J., Novák F., Nováková O.: Up-regulation and redistribution of protein kinase C- δ in chronically hypoxic heart, *Mol. Cell Biochem.* **345**, 271-282 (2010). Autorka prokázala, že proteinkinasa C δ je důležitým faktorem v kardioprotektivním účinku chronické hypoxie. Dále našla zvýšené relativní zastoupení proteinkinasy C δ v myokardu potkanů adaptovaných na chronickou hypoxii zejména v sarkolemálních a mitochondriálních membránách. Zastoupení proteinkinasy C ϵ za stejných podmínek nebylo pozorováno. Jako nejdůležitější přínos této práce hodnotím zjištění, že podání inhibitoru proteinkinasy C δ přesun tohoto enzymu do sarkolemálních a mitochondriálních membrán potlačuje.

Po formální stránce je práce členěna obvyklým způsobem, vyhovujícím pracím obdobného charakteru.

K práci mám následující připomínky a dotazy:

1. Práce je velmi dobře zpracována po formální stránce s minimem překlepů (např. na straně 9 poslední řádek překlep – „...mitochondriální fize.“; na straně 12 na druhém řádku druhého odstavce chybí „nebo“).

2. Předkládaná rigorózní práce se zabývá studiem problematiky, která je potenciálně klinicky využitelná pro pacienty trpící ischemickou chorobou srdce. Co je příčinou ischemické choroby srdce?
3. Předkládaná rigorózní práce je obhajována ve studijním oboru „Klinická a toxikologická analýza“, proto mi prosím jmenujte alespoň tři používané klinické (biochemické) markery konečného stádia ischemické choroby srdce a poškození srdce tj. infarktu myokardu.
4. Jaký je mechanismus působení Vámi použitého inhibitoru protein kinasy C δ , rottlerinu? Jak je to se specifitou tohoto inhibitoru právě jen k isoformě δ ? Jednotlivé isoformy proteinkinasy C budou zřejmě velmi homologní.
5. Proč se lišila nanesená množství celkových proteinů (5 – 15 μ g) jednotlivých frakcí (homogenát, cytosol, celková partikulární frakce a potom jednotlivé subcelulární frakce – nukleárně-cytoskeletární, mitochondriální a mikrosomální) analyzovaná elektroforesou a následně western blottingem (viz. obrázek 2A, 2B, 3A, 3B a 4)?

Předkládaná rigorózní práce Mgr. Kristýny Kožichové podle mého názoru splňuje požadavky kladené na práce tohoto typu. Proto ji doporučuji k obhajobě.

V Praze, 8. 4. 2012

RNDr. Markéta Martínková, Ph.D.