

## Posudek na disertační práci Libora Škárky

### *Ontogenetický vývoj mitochondrií srdečního svalu a jejich úloha v odolnosti k nedostatku kyslíku*

Cílem předkládané disertační práce je přispět k objasnění mechanismů věkově závislé citlivosti savčího myokardu k ischemicko-reperfučnímu (I/R) poškození. Hlavním přínosem práce je detailní popis vývoje mitochondriálního membránového potenciálu a rozbor věkově závislé úlohy MPT póru v I/R poškození myokardu. Z práce je zřejmé, že v období odstavu nastávají zásadní změny mitochondriální funkce související s celkovou přeměnou energetického metabolismu a změnou preference metabolických substrátů myokardu.

Získané poznatky podporují představu, že přechod myokardu na téměř výhradně aerobní metabolismus založený na vysoké účinnosti energetické přeměny (oxidativní fosforylace) je provázen podstatným zvýšením citlivosti k I/R poškození. Vzniká tak otázka, zda lze mobilizovat ontogeneticky a fylogeneticky starší mechanismy zvýšené odolnosti vůči hypoxii a tím zlepšit možnost přežití dospělého jedinci v situaci ischemického infarktu.

Práce se skládá ze dvou částí – ontogeneze mitochondriálního membránového potenciálu a věkově závislé úlohy MPT póru v mechanismech I/R poškození myokardu. V první části se vhodně doplňuje popis vývoje mitochondriálního membránového potenciálu v jednotlivých subpopulacích mitochondrií s měřením vývojových změn exprese vybraných enzymů (COX, ANT) a rozptylujících proteinů (UCP2, UCP3). K této části nemám zásadních připomínek.

Druhá část disertace se zaměřuje na srovnání úlohy MPT póru při I/R poškození myokardu u 10ti denních a dospělých potkanů. Ukazatelem rozsahu poškození myokardu (perfundovaného podle Langendorffa) je vyplavování LDH z poškozených buněk myokardu do perfusátu. Blokáda MPT póru sanglifehrinem snižuje uvolňování LDH u dospělých potkanů ale nikoliv u mláďat. V rámci další analýzy byl studován vliv blokády MPT póru na množství  $\text{NAD}^+$  v myokardu vystavenému I/R poškození. Po I/R poškození myokardu dospělých potkanů ovlivněných sanglifehrinem bylo nalezeno zvýšené množství  $\text{NAD}^+$  v tkáni myokardu ve srovnání s myokardem zvířat vystavených I/R bez blokády MPT póru (obr. 17). Protože chybí hodnoty z intaktních zvířat, nelze posoudit, zda jde o zvýšenou tvorbu  $\text{NAD}^+$  nebo spíše o jeho snížené vyplavování, což je pravděpodobnější, neboť blokáda MPT póru (prostupného pro  $\text{NAD}^+$ ) omezí jeho výstup z mitochondrie.

#### Detailní připomínky:

**Úvod 14** „... mitochondrie jsou nejen hlavním zdrojem ROS ale i hlavním místem jejich likvidace“. Týká se likvidace pouze ROS produkovaných mitochondrií nebo i ROS z jiných zdrojů (xantin oxidáza, NADPH oxidáza, NO syntáza, atd.)?

**Metodika 8** Ztráty LDH z poškozeného myokardu do perfuzátu v nkat/g tkáně jistě rostou s časem, takže bych očekával jako jednotku spíše nkat/g/min. Dále by bylo vhodné vysvětlit dvouřádkové rozdíly jednotek na ose y u obr. 15 a 16.

**Výsledky str. 11, obr. 17** Zde chybí kontrolní hodnoty zcela intaktních zvířat (srovnání je pouze I/R vs I/R+sanglifehrin), takže nevíme, co vlastně I/R s obsahem  $\text{NAD}^+$  udělá.

**Diskuse str. 4** Pokles účinnosti energetické přeměny v myokardu během údobí odstavu by měl být doložen nějakými bioenergetickými studii resp. měřením aerobního metabolismu (byť literárně), protože samotné zvýšení exprese UCP3 není úplně přesvědčivé.

**Diskuse str. 5** Které nálezy (obrázky) dokládají změny účinnosti oxidativní fosforylace během vývoje u SSM s NP.

**Diskuse str. 6 nahoře** Co když MPT pór hraje úlohu jen v I/R poškození, které postihuje myokard pracující výhradně na aerobní metabolismus? V tom případě by inhibice MPT póru u mlád'at asi moc velký efekt neměla?? Jak velký je podíl glykolýzy a aerobní oxidace u mladých a dospělých srdcí?

### Závěr:

Práce se zabývá nanejvýše aktuálním tématem vývojových změn odolnosti myokardu vůči ischemicko-reperfučnímu poškození. O prioritě dosažených výsledků nejlépe svědčí řada publikací uchazeče v prestižních časopisech. Vzhledem ke splnění všech zákonných náležitostí a vzhledem k originálním výsledkům dosaženým moderními technikami a pečlivému zpracování získaných dat doporučuji práci k obhajobě. Domnívám se, že uchazeč je schopen dalšího samostatného vědeckého vývoje.

V Praze, 1. 6. 2006

MUDr. Josef Zicha, DrSc.

**P.S. Zároveň bych chtěl omluvit svou nepřítomnost na obhajobě, ale v daném termínu budu služebně v zahraničí.**