

Oponentský posudek na disertační práci

Jméno oponenta: Doc. RNDr. Jan Brábek, Ph.D.

Datum 18.2.2019

Autor: Mgr. Jan Blecha

Název práce: **Molecular bases of sensitivity to electron transport chain inhibition-induced cell death.**

Molekulární podstata citlivosti k buněčné smrti indukované inhibicí elektron-transportního řetězce.

Cílem disertační práce Mgr. Jana Blechy bylo objasnit jakými mechanismy potlačují inhibitory elektron transportního řetězce růst nádorů.

Práce je přehledně členěna na předepsané části. Po abstraktu v anglickém a českém jazyce a Cílech práce následuje čtvrtý Úvod, psaný dobrou angličtinou. Úvod je zahájen kapitolami o Warburgově efektu, buněčném cyklu a proliferaci. Další část úvodu pojednává o mitochondriích s důrazem na elektron transportní řetězec, reaktivních kyslikových radikálech a oxidativním stresu. Úvod uzavírá kapitola o programované buněčné smrti. Následuje podrobná a přehledná kapitola o metodách práce.

V kapitolách Results jsou ve 40 podkapitolách velmi podrobně popsány výsledky, vztahující se k jednotlivým cílům disertační práce. Diskuse v rozsahu 6 stran je stručná, ale velmi zdařilá, hodnotí podstatné výsledky a uvádí je do souvislosti s nejnovějšími pracemi v oboru. Následuje stručné celkové Shrnutí výsledků, Seznam zkratek a Přehled použité literatury.

Autor se spolupracovníky ukázal, že podstatou protinádorového účinku látky MitoTAM je efektivní inhibice respiračního komplexu I provázená vysokou mírou produkce ROS a to zejména v nádorech se zvýšenou hladinou Her2, které vykazují vyšší míru uspořádanosti ETC do superkomplexů spojenou s vyšší mírou respirace.

Dále autor zjistil, že navzdory zvýšené míře uspořádanosti ETC a respirace v klidových buňkách, tyto buňky byly v případě dostatku glukózy méně citlivé k buněčné smrti indukované činidly působícími oxidační stres nezávisle na ETC, inhibitory ETC i inhibitory mitochondriální produkce ATP, což bylo provázeno nižší produkcí ROS. Klidové buňky mely zvýšenou proteinovou i aktivitní úroveň antioxidační ochrany a genové utlumení SOD2 a TRX2 bylo provázeno zvýšenou mírou buněčné smrti specificky v klidových buňkách. Tyto výsledky naznačují, že zvýšená schopnost detoxifikovat ROS určuje citlivost klidových buněk k inhibici ETC v situaci, kdy glukóza není limitující. Oproti tomu nedostatek glukózy signifikantně zvýšil citlivost klidových buněk vůči inhibitorům ETC a mitochondriální syntézy ATP, zatímco citlivost vůči induktorům ROS nezávislým na ETC zůstala nezměněna. V případě inhibitorů ETC a ATP syntézy autor zaznamenal souvislost s letálním úbytkem ATP, což bylo umocněno neschopností klidových buněk zvýšit příjem glukózy a doplnit tak ztrátu ATP v glykolýze. Pokusy s buňkami deficientním na ETC ukázaly, že funkční ETC doplňuje ochrannou úlohu antioxidantů v klidových buňkách.

Uvedená data naznačují, že inhibice ETC s následným vyčerpáním ATP je spouštěcím faktorem buněčné smrti v situaci nedostatečné glukózy, zatímco ROS indukované blokádou ETC iniciuje buněčnou smrt, když je glukóza v dostatku. Kombinace antioxidační ochrany a dostupnosti glukózy proto spoluurčuje molekulární specifitu buněčné smrti vyvolané inhibicí ETC.

Vytčené cíle disertační práce byly jednoznačně splněny. Ve své práci autor využil velké množství metod biochemie, molekulární a buněčné biologie. Prokázal schopnost formulovat hypotézy, provádět komplexní experimenty, kriticky je hodnotit a výsledky uvádět do širších souvislostí. Rovněž prokázal schopnost připravovat rukopisy vědeckých prací pro publikaci v mezinárodních impaktovaných časopisech. Výstupem práce jsou dvě publikace v kvalitních mezinárodních časopisech s vysokým impaktem faktorem, v jedné z nich je kandidát prvním autorem a třetí publikace ve stádiu in preparation.

Práce podle mě jednoznačně splňuje požadavky na disertační práci a navrhoji její přijetí.

Po formální stránce nemám k práci kromě občasného výskytu překlepů připomínky, práce je psaná velmi dobrou angličtinou, bohatá obrazová dokumentace i celková úprava je na vysoké úrovni.

K práci mám následující otázky:

Přispívají k produkci ROS, indukované látkou Mito-TAM také komplexy III a IV dýchacího řetězce?

Napadají autora strategie, jak v terapii ještě efektivněji zkoušit využít získané poznatky o závislosti účinku látky Mito-TAM na dostupnosti glukózy a kyslíku?

Hrají v autorem studovaných efektech nějakou roli i mitochondriálně lokalizované estrogeny receptory?

Podpis oponenta:

Doc. RNDr. Jan Brábek, Ph.D.