



Neurologická klinika

Universita Karlova, 1. lékařská fakulta
Všeobecná fakultní nemocnice v Praze
Kateřinská 30, 128 21 Praha 2



Oponentský posudek na diplomovou práci Bc. Šárky Kučerové.

Název práce: **Monitorování vývoje onemocnění Huntingtonovy choroby u transgenních miniprasat s N-terminální částí lidského mutovaného huntingtinu: biochemické a motorické změny u F0, F1 a F2 generace.**

Oponent: doc. MUDr. Jiří Klempíř, PhD.

Bc. Šárka Kučerová předložila k oponentuře česky psanou diplomovou práci, která se zabývá studiem animálního modelu Huntingtonovy nemoci. Huntingtonova nemoc je nejčastější neurodegenerativní onemocnění s autozomálně dominantním typem dědičnosti, u kterého dosud postrádáme kauzální terapii.

Cíle práce jsou stručně a srozumitelně definovány. Autorka se zaměřila na detekci mRNA pro mutovaný huntingtin a sledování exprese mutovaného proteinu v různých tkáních u transgenních miniprasat ve třech generacích. Dále mapovala výskyt oligomerních forem mutovaného huntingtinu v kortexu TgHD miniprasat starých 48 měsíců a v mozku transgenních HD myší starých 4 a 12 týdnů. Bc. Šárka Kučerová si kladla za cíl sestavit baterii motorických, behaviorálních a kognitivních testů vhodných pro klinické sledování transgenních miniprasat.

Práce má přes 80 číslovaných stran. V úvodní kapitole je stručná historie poznávání Huntingtonovy nemoci, aktuální přehled o struktuře a funkci mutovaného i nemutovaného huntingtinu a jejich distribuci v různých orgánových systémech. Poslední část úvodu je věnována klinickým projevům této nemoci u člověka.

V následující kapitole se nachází rozsáhlý přehled animálních modelů Huntingtonovy nemoci. Podstatná část textu je zaměřena na charakteristiku liběchovského prasečího transgenního modelu.

Zkoumané animální soubory a metodika výzkumu jsou detailně popsány na 10 stranách.

Dosažené výsledky jsou diskutovány na 30 stranách. Šárka Kučerová prokázala přítomnost mRNA pro mutovaný huntingtin v centrálním nervovém systému a ve varlatech transgenních jedinců ve všech generacích. Mutovaný huntingtin byl exprimován nejvíce v mozku a varlatech a podstatně méně v myokardu, kosterní svalovině, jaterní a plicní tkáni. Výsledky naznačují nárůst koncentrace mutovaného huntingtinu s věkem subjektů. Ke stěžejním výsledkům patří průkaz zvýšené přítomnosti fragmentů mutovaného huntingtinu v mozcích transgenních prasat.

Šárka Kučerová sestavila baterii devíti testů pro klinické testování prasat. Dosavadní výsledky i přes malý soubor naznačují možné incipientní motorické a behaviorální změny analogické změnám pozorovaným u osob v presymptomatických stádiích Huntingtonovy nemoci.

Po formální stránce je práce dobře zpracována, jazykové chyby se vyskytují jen ojediněle. Autorka v textu místy zaměňuje pojmy motorické, kognitivní a behaviorální poruchy, ale přesto je obsah textu srozumitelný. Za nevhodné považuji slovní spojení typu „fyziologická porucha“ nebo „mezi nejvýraznější fyziologické projevy se řadí mimovolní pohyby“ apod.

V textu na s. 13 jsou porovnávány vlastnosti genu pro Huntingtonovu nemoc a syndromu fragilního X chromozomu, který sice patří mezi tripletová onemocnění, ale v tomto případě patologická je CGG repetice a syndrom vykazuje jiný typ dědičnosti než Huntingtonova nemoc. Autorka měla jistě na mysli tzv. spinocerebellární ataxie, z nichž některé mohou být klinicky podobné syndromu fragilního X.

V přehledu bezobratlých modelů nemoci (s. 24) postrádám *Caenorhabditis elegans*, na kterém již byla provedena celá řada důležitých pozorování.

V souvislosti se zaměřením diplomové práce mám následující otázky:

1. V textu uvádíte řadu faktorů, které mohou u člověka ovlivnit rozvoj nemoci. Jak se může chovat premutace či mutace při maternální a paternální transmisi?
2. V práci popisujete a srovnáváte výskyt agregátů v centrálním nervovém systému u nemocných osob a animálních modelů. Koreluje jejich výskyt s genotypem? Co svědčí pro toxicitu agregátů?
3. V práci jste se zabývala sledováním výskytu fragmentů mutovaného huntingtinu. Zkoušela jste hodnotit i oligomerní formy fyziologického huntingtinu?

4. Při klinickém testování jste použila 9 různých testů. Které z nich byly již používány v minulosti i u jiných modelů a které jsou nové?
5. Jaké vidíte hlavní nedostatky v případě Vámi zkoumaného transgenního modelu?

Diplomovou práci Bc. Šárky Kučerové i přes drobné nedostatky hodnotím kladně neboť prokázala, že se orientuje v relevantní vědecké literatuře, samostatně uvažuje o experimentech, které sama provádí a jejich výsledky dobře interpretuje. Proto doporučuji po úspěšné obhajobě práce udělit Šárce Kučerové titul Mgr.

V Praze dne 3.9.17

doc. MUDr. Jiří Klempíř, PhD.



Kontakt:

Neurologická klinika a Centrum klinických neurověd
Universita Karlova v Praze
1. lékařská fakulta a Všeobecná fakultní nemocnice v Praze
Kateřinská 30, 120 00 Praha 2
tel. +4202 2496 5539
fax +4202 2492 2678
e-mail jiri.klempiri@seznam.cz