

Praha, 23.5.2018

Oponentský posudek na dizertační práci MVDr. Boženy Bohuslavové

(Laboratoř buněčné regenerace a plasticity, Ústav živočišné fyziologie a genetiky AV ČR, v.
v. i., Liběchov)

na téma:

*Fenotypová štúdia Huntingtonovej choroby TgHD miniprasiat: Nástup a priebeh
reprodukčných zmien*

Rozsah disertační práce je 96 stran textu obsahujících základní informace o Huntingtonově nemoci, proteinu huntingtinu a jeho mutované formě, dále o patologických změnách v mozku a dalších tkání při této nemoci. Následně je podrobně rozebrán zvířecí model Huntingtonovy nemoci – transgenní miniprase „stvořené“ na pracovišti autorky v Liběchově. Další část disertace je již věnována hlavním výzkumným cílům, respektive nejdříve obecným informacím o studované tkáni – spermii. Následně jsou definovány základní cíle disertace, užití metodiky a výsledky, včetně obecných závěrů. Součástí práce je bohatá a recentní prostudovaná literatura. Přílohou disertační práce jsou 3 výzkumné studie autorky a Liběchovského týmu.

Cíle:

- 1.cíl: popsat funkční a strukturální změny spermií miniprasat - kanců a to jak transgenních, tak kanců nesoucích wild-type alelu (kontrol).
- 2.cíl: popsat metabolické změny tkáně varlat u transgenních prasat pomocí MR-spektroskopie.
- 3.cíl: detekovat typy mitochondriální dysfunkce spermií transgenních samců.

Dosažené výsledky:

Změny počtu spermií a další patologické charakteristiky byly detekovatelné již od 2 roku života. Poškození bylo zachyceno jak strukturálního, tak funkčního rázu (mikroskopický nález, imunohistochemické změny, MR-spektroskopie).

Byla nalezena vysoká exprese mutovaného huntingtinu ve tkáni varlat i ve spermích.

Studium mitochondriálního metabolismu spermií (polarografie, oxidace radioaktivních substrátů) přineslo zásadní výsledek, a to významný pokles úrovně glykolytické dráhy. Na základě studií byly charakterizovány nadějně biomarkery (spojené se spermii a tkání varlat) vhodné pro monitorování nástupu a progresu onemocnění.

Formální úroveň: práce je rozčleněna velmi přehledně. **Stylistická úroveň:** písemný projev autorky je vysoce odborný, přitom však srozumitelný. Vzhledem k obtížnosti problematiky je srozumitelnost autorčina textu velkou předností pro čtenáře méně obeznaného v preklinické problematice. **Věcná úroveň:** některé klinické informace v textu nejsou zcela přesné, adekvátní či jejich interpretace „nesedí“. To však je zcela marginálního významu.

Otázky, které si autorka kladla, byly uspokojivě odpovězeny. Disertační práce plně splnila předsevzaté úkoly.

Význam studií:

Získané výsledky autorky a Liběchovského týmu jako celku jsou v kontextu světové odborné literatury prioritní a prestižní! Celý dlouhodobý výzkumný program pracoviště PIGMOD zasluhuje nejvyšší pozornosti a nepochybně přispěje významným dílem k pochopení podstaty patogenetických mechanismů vyplývajících z gain-of-function mutovaného huntingtinu. To má zásadní význam pro hledání kauzální terapie této strašlivé, devastující choroby.

Závěr:

Disertační práce jednoznačně splnila předsevzaté cíle a předložené práce prokazují veškeré formální, metodické i věcné atributy kladené na samostatnou výzkumnou práci.

Disertační práce plně splňuje veškerá kritéria kladená na získání titulu PhD.

Dotazy a náměty k diskusi:

Jak je to s fertilitou transgenních kanců v průběhu jejich stárnutí, tedy rozvoje nemoci? Jsou změny spermií natolik významné, že se stanou neplodnými?

Byly studovány i oocyty transgenních samic?

Prof. MUDr. Jan Roth, CSc.

Neurologická klinika a Centrum klinických neurověd 1.lékařské fakulty Univerzity Karlovy v Praze

Kateřinská 30

120 00 Praha 2

e-mail jan1roth2@gmail.com