



V Praze dne 4. 6. 2018

Oponentský posudek na dizertační práci MVDr. Boženy Bohuslavové na téma „Fenotypová štúdia Huntingtonovej choroby TgHD miniprasiat: Nástup a priebeh reprodukčných zmien“.

Předložená dizertační práce je psaná formou zevrubného pojednání a na konci je doplněná o pdf tisky tří původních impaktovaných publikací. Tematicky se autorka věnuje problematice spermatogeneze a fyziologicky-biochemicky-morfologickým změnám varlat kanců F1 a F2 generace s vneseným genem pro lidský mutovaný Huntingtin.

Práce je standardně členěna. V úvodních kapitolách je popsána historie výzkumu Huntingtonovy choroby (HD) včetně její patofyziologie manifestující se v různých orgánech, jako např. mozek, kardiovaskulární systém, kosterní svalstvo, či varlata. Nechybí taktéž pojednání o behaviorálních dopadech této nemoci. V další části se autorka věnuje současným možnostem léčby HD, či spíše experimentálním přístupům k ní, v podobě genové terapie. V práci nechybí popis unikátního modelu Liběchovského miniprasete s vneseným genem pro lidský mutovaný Huntingtin, které slouží jako modelový organismus pro výzkum tohoto onemocnění. Vzhledem k tématu dizertační práce autorka na závěr doplnila kapitolu týkající se obecných mechanismů spermatogeneze včetně její patofyziologie u pacientů s HD.

Autorka si v dizertační práci vytýčila celkem tři cíle: 1) popis funkčních a strukturních změn spermií kanců miniprasat transgenních pro mutovaný lidský Huntingtin a jejich sourozenců z kontrolní skupiny, 2) studium metabolických změn ve varlatech F2 generace transgenních kanců s použitím ³¹P MRI spektroskopie, 3) studium mitochondriální dysfunkce u transgenních kanců. Každý z cílů je ve výsledkové rovině podpořen jednou publikací s impakt faktorem. Dvě publikace byly otištěny v časopisu *Neurodegenerative Diseases* (IF = 2,842) a jedna, pojednávající o metabolických změnách ve varlatech transgenních kanců pomocí ³¹P MRI spektroskopie v časopisu *Česká a slovenská neurologie a neurochirurgie* (IF = 0,209). Ani jedna publikace není prvoautorská *in stricto sensu*. Na druhou stranu v publikaci *Mutated Huntingtin Causes Testicular Pathology in Transgenic Minipig Boars* otištěné v časopise *Neurodegenerative Diseases* autorka sdílí prvoautorství se svou kolegyní Monikou Mačákovou.



PŘÍRODOVĚDECKÁ
FAKULTA
Univerzita Karlova

Po formální stránce je práce psaná čtivě a přehledně. Bohužel se v ní vyskytuje poměrně velké množství překlepů. Taktéž obrazová dokumentace, ač vhodně doplňující textové pasáže, je na nízké úrovni rozlišení, což poněkud kazí dojem z jinak solidně zpracované dizertační práce. Přes tyto prohřešky práci hodnotím jako velmi dobrou a doporučuji jí k přijetí s následným udělením titulu Ph.D.

Otázky oponenta:

- 1) V práci popisujete negativní efekt fragmentů mutovaného lidského Huntingtinu na množství spermií v ejakulátu, na jejich motilitu a morfologii. Jako důkaz uvádíte přítomnost těchto fragmentů na povrchu spermií. Existuje nějaký model, který by tento vztah popisoval na molekulární úrovni?
- 2) Na str. 47 píšete, cituji: „Môže to byť spôsobené práve tým, že semenníky majú najviac podobnú génovú expresiu ako mozog a táto podobná expresia môže spôsobiť atrofiu semenníkov, ktorá bola taktiež pozorovaná u transgénnych modeloch HCH myší“. Vysvětlete, prosím, jak podobnost genové exprese může způsobit atrofii varlat? Jak moc rozsáhlá je podobnost exprese mezi mozkiem a varletem?
- 3) Na str. 56 píšete, cituji: „Pomocou ³¹P MR spektroskopie sme zistili výrazné zníženie pomeru PDE / γ -ATP ($p = 0,022$) u TgHD kancov v porovnaní s WT súrodencami a žiaden rozdiel v koncentrácii PME a Pi. Co konkrétně tyto poměry znamenají a o čem vypovídají?

doc. RNDr. Ing. Vladimír Krylov, PhD.