

OPONENTSKÝ POSUDEK

**doktorské disertační práce Mgr.Olgy Kostkové-Brantové:
„Study of Mitochondrial Ultrastructure and Functions in Selected
Mitochondrial and Lysozomal Storage Disorders.“**

předkládá: Prof.MUDr.J.Hyánek,DrSc.

Doktorská práce Mgr.Kostkové-Brantové vznikla při řešení velmi náročných grantových úkolů podporovaných IGA,GAČR,či Centre of Applied Genomics ,kterými se zabývaly Laboratoř pro studium mitochondriálních poruch a Ústav dědičných metabolických poruch v letech 2004-2009. Vychází z dlouholetého zaměření pracoviště pro studium mitochondriálních onemocnění(MO) doplněné o mitochondriální poruchy vyskytující se také u některých lysozomálních onemocnění(LO). Prognoza, klinický průběh i eventuelní výsledky kauzálního léčení jsou stále problematické a jsou „černou mřou“ nejenom pediatriů a internistů, ale i dětských neurologů, genetiků, metabologů, klinických i eidetických biochemiků . .Soustavná práce disertantky vyústila dosud ve 3 kvalitní zahraniční publikace,které jsou přílohou dizertace.

Doktorská práce představuje 117 stránek rukopisu,skoro 200 recentních literárních citací ,8 tabulek a 51 vyobrazení. Představuje u nás zatím jediný ucelený doklad současné úrovně poznání těchto mitochondriální změn.V dostupné zahraniční literatuře jsou s nahlédnutí jen 3 podobné informace velmi kusé a neúplné.Práce je výsledkem 5-leté práce disertantky pod vedením zkušených mentorek a jejich nejbližších spolupracovníků ve snaze prokázat specifické morfologické nebo funkční změny na mitochondriích, které by byly typické pro MO neboé vybraná LO.Jako reprezentační vzorky disertatntka vybrala fibroblasty závažných syndromů MELAS,MERRF,Leigh sy nebo typických forem alfa-

manosidozy, m.Gaucher, m.Niemann-Pick, m.Fabry. Tyto by měly posloužit v budoucnosti k rozšíření hlavně diagnostických poznatků o těchto onemocněních.

Metodika studia mitochondriálních ultrastruktur v kultivovaných fibroblastech vybraných MO je rozsáhlá s vyčerpávající spektrem náročných vyšetření rozdílné povahy a na velmi vysoké odborné úrovni odpovídající renovanému pracovišti světové úrovně; soubory fibroblastových kultur pacientů nejsou sice velké, ale postačující k solidním závěrům; a kritický pohled dizertantky k těmto zcela novým nálezům velmi sofistikovanou metodikou - svědčí o dostatečné literární či odborné vzdělanosti a přehledu v oboru.

Reálným přínosem Mgr Kostkové pro laboratorní diagnostiku MO a LO ,kterého si velice vážím, je analýza tkáňově specifického dopadu vybraných mtDNA mutací(8363G>A,3243G>A,,8344A>G) na množství a funkci enzymů oxidační fosforylace a dále pak zjištění výrazné strukturální abnormality, svědčící pro patologický dopad mtDNA mutací (3243A> zjištění výrazné strukturální abnormality,svědčící pro patologický dopad mtDNA mutací(3243A>G, 8344A>G8993T>G) na mitochondriální funkce a mitochondriální morfologii. Podobné změny našla dizertantka ve fibroblastech sledovaných lysozomálních stádavých onemocnění. U alfa-manosidozy spočívaly tyto aberace v dilatovaném endoplasmatickém retikulu,přítomnosti četných aberantních mitochondrií a redukováném obsahu mitochondrií, zatímco aktivity komplexu IV respiračního řetězce a cytochrom c oxidaza byly zvýšeny. U většiny z analyzovaných linií byla pozorována nespecifická dysbalance aktivit systému OXPHOS u většiny MO nalezena snížená pufrční vápníková kapacita ,stejně jako u m.Gaucher a Niemann-Pick A. Hladověním stimulová autofagická odpověď nalezena jen u MO nikoli u LO.

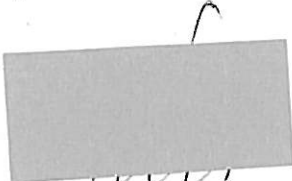
Po přečtení této obsáhlé disertace si neodpustím kritickou otázku: které ty Vámi nalezené změny za pomoci dosti sofistikované metodiky jste už v mitochondriální nebo lysozomální laboratoři opravdu zavedli do rutinní praxe ke zlepšení diagnostiky a event. hodnocení léčby MO či LO-nebo zatím zůstávají na akademické úrovni k lepšímu pochopení pathogenezy?

Další dotaz mám na intenzitu stimulované autofagické odpovědi, zda je tak typická, že by mohla být využitelná i diagnosticky u MO či LO či jiných dědičných metabolických poruch?

Práce je velice pečlivě stylisticky připravena;seznam literatury,seznam zkratk pro rychlé porozumění textu,tabulky i vyobrazení vzorné;ani v obsáhlé literatuře jsem nenašel žádné závažné překlepy.

Mgr.Kostková svými publikacemi i předloženou kvalitní disertací splnila plán své disertační přípravy předepsané pro postgraduální studium biomedicíny na KU. Doporučuji proto komisi pro obhajobu doktorských disertačních prací v oboru biochemie, aby souhlasila s udělením titulu PhD pro, který splňuje všechny podmínky.

Praha, 12.9.2009



Prof.MUDr.J.Hyánek,DrSc
Odd.klin.biochemie Nemocnice Na Homolce
150 30 Praha 5,Roentgenova 2.