



Klinika dětského a dorostového lékařství 1. LF UK
Ke Karlovu 2, 128 08 Praha 2
Laboratoř pro studium mitochondriálních poruch
Tel. a fax: +420-224 967 099

Posudek oponenta na diplomovou práci	
<input type="checkbox"/> oponentský posudek	Jméno posuzovatele: RNDr. Jana Sládková CSc
	Datum: 5. 9. 2013
Autor: Bc. Eva Kotrčová	
Název práce: Vliv změněné funkce autofagosomů na patofyziologii Huntingtonovy choroby	
Cíle práce Cílem této diplomové práce bylo přispět k objasnění role autofagie při etiopatogenezi Huntingtonovy choroby na modelu Liběchovského miniprasete. Obsáhlý literární přehled se zabývá jednak molekulární podstatou Huntingtonovy choroby a jejími modely, strukturou a funkcí huntingtinu, dále mechanismy a typy autofagie. Zejména jsou dokumentovány možnosti jejího monitorování na úrovni hodnocení exprese dvou velmi důležitých proteinů pro tvorbu autofagosomů LC3 a p62 . Autorka se zaměřila na sledování dopadu mutovaného huntingtinu u transgenních miniprasat na makroautofagii kultivovaných mezenchymálních kmenových buněk (byly hodnoceny hladiny LC3 a p62 před a po umělé stimulaci autofagie rapamycinem a chloridem amonným) a zároveň byly analyzovány oba klíčové proteiny ve vzorcích tří oblastí mozku (mozkové kůry, mozečku a striata) u zkoumaných zvířat. Nezbytným předpokladem získání výsledků bylo zvládnutí řady potřebných laboratorních technik (tkáňové kultury, metody imunoblotu aj.) včetně zpracování a hodnocení vzorků za využití grafických a statistických programů.	
Struktura (členění) práce, odpovídá požadovanému? ANO Rozsah práce (počet stran): 68 Je uveden anglický abstrakt a klíčová slova, ANO Je uveden seznam zkratk? ANO	
Literární přehled:	



Klinika dětského a dorostového lékařství 1. LF UK
Ke Karlovu 2, 128 08 Praha 2
Laboratoř pro studium mitochondriálních poruch
Tel. a fax: +420-224 967 099

Odpovídá tématu? ANO
Je napsán srozumitelně? ANO
Použil(a) autor(ka) v rešerši relevantní údaje z literárních zdrojů? ANO
Jsou použité literární zdroje dostatečné a jsou v práci správně citovány? ANO

Materiál a metody:

Odpovídají použité metody experimentální kapitole? ANO
Kolik metod bylo použito? 4

Jsou metody srozumitelně popsány? ANO

Experimentální část:

Je vysvětlen cíl experimentů? ANO
Je dokumentace výsledků dostačující? ANO
Postačuje množství experimentů k získání odpovědí na zadané otázky? ANO

Diskuze:

Je opravdu diskuzí, nejde jen o konstatování vlastních výsledků? ANO
Jsou výsledky porovnávány s literaturou? ANO
Jsou uvedeny nějaké hypotézy či návrhy na další řešení problematiky? ANO

Závěry (Souhrn) :

Jsou výstižné? ANO

Formální úroveň práce (obrazová dokumentace, grafika, text, jazyková úroveň):

Práce je přehledně členěna do 7 kapitol, doplněna řadou precizních tabulek, grafů, schémat a obrázků. Text je jazykově dobře upraven, bez formulačních problémů, obsahuje jen dva překlepy a jednu nepřesnost v anatomickém názvosloví (ad oblast striatum v mozku?)

Splnění cílů práce a celkové hodnocení:

Z hlediska odborné úrovně a vysoké metodické náročnosti hodnotím předkládanou práci jako velmi kvalitní navzdory neprokázaným statisticky významným změnám v expresi jednotlivých markerů autofagie u jednotlivých tkání v daném stádiu vývoje Huntingtonovy choroby u testovaných miniprasat. Autorka ve svědomitě rozpracovaných dílčích výsledcích založených na grafických analýzách diskutuje statistická úskalí, vysvětluje možné příčiny nevýznamných změn a hodnotí limity tohoto náročného a zároveň velmi potřebného výzkumu. Předkládaná práce plně vyhovuje požadavkům kladeným na diplomové práce a doporučuji, aby byla přijata k obhajobě. Práci hodnotím klasifikačním stupněm 1.

Otázky a připomínky oponenta:

1. Proč se projevívá patologie Huntingtonovy choroby až v pozdějším věku:



Klinika dětského a dorostového lékařství 1. LF UK
Ke Karlovu 2, 128 08 Praha 2
Laboratoř pro studium mitochondriálních poruch
Tel. a fax: +420-224 967 099

v kolika letech předpokládáte zhoršení a mortalitu u vašich prasátek? Je možné nějak připodobnit věk prasat k lidskému věku (pro představu rozvoje Huntingtonovy chorei)?

2. V oblasti striata údajně (liter. 33) dochází k úbytku neuronů: bylo by možno tento úbytek prokázat i ve vašich vzorcích a mohl by event. ovlivnit i výsledky měření aktivity autofagie? Máte nějaké výsledky s NMR mozků nemocných prasátek?
3. Je znám mechanismus působení mutovaného. huntingtinu na mitochondrie?
4. Je nějaké vysvětlení záhadné distribuce huntingtinu v jednotlivých tkáních: v mozku byla prokázána zvýšená exprese mutovaného huntingtinu na rozdíl např. od kosterního a srdečního svalu?

Návrh hodnocení oponenta (známka nebude součástí zveřejněných informací)

výborně

Podpis oponenta: