

Oponentský posudek na magisterskou práci

Bc.Tereza Daňhelovská (2016)

Kapacita mitochondriálního energetického metabolismu v kultivovaných kožních fibroblastech

Magisterská práce Bc.Terezy Daňhelovské se věnuje studiu kapacity mitochondriálního energetického metabolismu (KMEM) v kultivovaných kožních fibroblastech od pacientů s izolovaným nebo kombinovaným deficitem komplexů oxidativní fosforylace (OXPHOS).

Zhodnocení částí předkládaného spisu

Teoretický úvod

Autorka velmi dobře zpracovala literární přehled, který je ucelený a pokrývá teoretický podklad vztahující se problematice řešené v diplomové práci. Autorka zpracovala značné množství literatury (více než 100 citací), které je citována dle normy. Teoretický úvod je doplněn 7 obrázky velmi dobré kvality, s detailní legendou a řádnou citací.

Materiál a metody

Práce zpracovává velmi náročnou metodu analýzy kapacity mitochondriálního energetického metabolismu v kultivovaných kožních fibroblastech. Dílčí kroky metody jsou detailně popsány. Je přítomen ucelený přehled použitých chemikálií. Velmi kvalitně je zpracován přehled vzorků od jednotlivých pacientů, který obsahuje 30 unikátních diagnóz.

Výsledky

Autorka zpracovala výsledky do 25 grafů, které uceleně prezentují získané výsledky. Grafy jsou graficky velmi kvalitně zpracovány včetně legend. V příloze je přítomno 14 tabulek, kde je přehledně zpracováno velké množství získaných dat.

Diskuze

V diskuzi a souhrnu jsou velmi zdařile zhodnoceny výsledky a diskutovány s různými literárními zdroji.

Zhodnocení formální kvality předložené práce

Formální zpracování práce dosahuje přijatelné kvality. Níže uvádím komentáře k několika formálním parametrům

Zkratky

Autorka zpracovala detailní seznam použitých zkratk, i přesto některé méně známé chybí – např.

KGD – pro ketoglutarátdehydrogenázu, anebo OSCP – pro Oligomycin sensitivity-conferring protein.

Dále jsou přítomny drobné chyby v označení – např. pro komplex III – cytochrom *bc₁* komplex by bylo vhodnější použít označení *bc₁*.(str. 3, 9)

Jazyk

Autorka se ojediněle dopustila gramatických chyb a překlepů (podjednotami – str.11; dihydrolypoyltransacetyláza – str.14; zvýšenéu – str.31; tudíš – str. 66). Některé věty jsou syntakticky chybné (chybí sloveso, ...)

např. na str. 26 - Dále pak encefalopatie, sideroblastická anemie, syndrom podobný laterální skleróze, MELAS, selhání ledvin, ketoacidotické kóma a tubulopatie.

Str.11 - Membránové F_0 , pojmenované podle její citlivosti k oligomycinu (specifický inhibitor ATP syntázy) a matrixové F_1 části.

V některých větách jsou špatně použity čárky.

Je přítomna chyba v anglických pojmech (např. treshold – str. 17)

Odborné pojmy

Autorka pracuje v textu s mnoha odbornými pojmy. Pro lepší přehled pro čtenáře je vhodné použít jednoho zavedeného pojmu pro označení jedné věci – např. nestřídat koenzym Q, koenzym Q_{10} , ubichinon.

Na str. 14 je nedodrženo jednotné označení pro enzymy pyruvátdehydrogenázového komplexu (E_2 versus E_2).

Na str. 21 je chybné označení kombinovaného defektu – místo KI+KIII/KII+KIII by mělo být KI+KIII a KII+KIII.

Na str. 47 je chybné označení Tris/HCl místo TRIS/HCl.

Prosím o vysvětlení použití označení enzymů OXPHOS na str. 67 – např. NADH:koenzym Q reduktáza. Nebylo by formálně správnější označení oxidoreduktázy?

Jednotky

Autorka používá odlišně mezeru mezi hodnotou a jednotkou (u %, °C, koncentrací mM, ...) – např. na str.4425 mM glukózou a 2mM L-glutaminem...

Str. 46 ...při -20°C ...

Grafy

Grafy jsou velmi zdařile zpracovány. Přidám několik komentářů –

Chybí vysvětlení značky Φ v grafu 1 na str.48. Pravděpodobně se jedná o aritmetický průměr, lepší by bylo asi použití značky \bar{O} .

U všech grafů není vysvětleno použití chybových úseček, zda se jedná o rozptyly, směrodatné odchylky či jiné statistické hodnoty.

Citace

Autorka odkazuje v textu na více než 100 citací, které jsou uceleně a dle normy uvedeny na konci práce. Nicméně na str. 67 je pro jednu citaci použito hned několik forem – A.J.M. Janssen et al.; Antoon Janssen; Antoon J.M. Janssen et al.; Janssen a kolektiv.

Zhodnocení splnění cílů a celkové hodnocení práce

Předložená diplomová práce splňuje předepsané náležitosti jak členění textu, použití zkratk, jednotek, pojmů, tak použití literárních zdrojů se správnou citací. Autorka velmi dobře zvládla zpracování velkého množství získaných výsledků do grafů a tabulek a následné zhodnocení v diskuzi. Diplomová práce splnila stanovené cíle a doporučuji její přijetí s hodnocením výborně.

Otázky a připomínky oponenta:

1. Jak si autorka vysvětluje velký rozdíl v heteroplasmii mutace u pacienta P9 ve svalu (97%) oproti fibroblastům (4%). Jedinec nesoucí patogenní mutaci v 4% by měl být zdravým jedincem, proto vidím diskrepanci ve spektrofotometrickém vyšetření ve fibroblastech, kde aktivita komplexu I vykazovala pokles na 36-70% kontrol?
2. Prosím o vysvětlení věty na str. 23 (Mutace v genu *TSM* vede k poruchám asemblace všech tří OXPHOS komplexů obsahujících mtDNA kódované podjednotky), když mtDNA nese geny pro 4 komplexy OXPHOS?
3. Prosím o vysvětlení pojmu heterodimer pro komplex II OXPHOS, který se skládá ze 4 podjednotek (A,B, C a D) – str.9.
4. Na straně 11 autorka uvedla pro ATP syntázu označení jako patý komplex dýchacího řetězce místo systému oxidativní fosforylace – prosím o vysvětlení.
5. Jak si autorka vysvětluje rozdíly výsledků u totožného pacienta získaných ze spektrofotometrického měření a analýzy KMEM - pacienti P2, P3, P4 a P7 (str.68)? A v případě pacientů P4 a P5 nesoucí totožnou mutaci rozdíl u spektrofotometrie (P4 normální nález, P5 snížení hned několika aktivit enzymů) – lze tento rozdíl vysvětlit různou heteroplasmii mutace?
6. Čím si autorka vysvětluje rozdíly závislosti aktivity na množství proteinu získaných při optimalizaci metody KMEM (str.48)?
7. Jaké výhody a nevýhody vidí autorka u metod KMEM oproti spektrofotometrické analýze?

V Praze, dne 27.5.2016

RNDr. MUDr. Pavel Ješina, Ph.D.

Ústav dědičných metabolických poruch

1.LF UK v Praze