

Posudek habilitační práce

Název habilitační práce: Mitochondriální nemoci způsobené genetickými poruchami F_1F_0 -ATP syntázy

Autor: RNDr. MUDr. Pavel Ješina, PhD.

Oponent: Doc. RNDr. Lenka Fajkusová, CSc.

Habilitační práce Dr. Ješiny se zabývá problematikou, ve které se autor profiloval během let do pozice mezinárodně uznávaného odborníka v oblasti diagnostiky a výzkumu mitochondriálních onemocnění. Jedná se o velmi komplexní problematiku vyžadující rozsáhlé znalosti a zkušenosti v oblasti klinické, biochemické, patologické a molekulárně biologické diagnostiky.

Práce s problematikou mitochondriálních onemocnění publikoval Dr. Ješina v 18 mezinárodních časopisech s IF a svými výsledky tak významně přispěl k objasnění patofyziologie mitochondriálních onemocnění. Cílem habilitační práce byl popis klinického průběhu mitochondriálních onemocnění s poruchou ATPázy, popis a charakterizace patogenních variant v genech asociovaných s poruchou mitochondriální ATPázy, popis možných patobiochemických mechanismů a vlivu oxidativního stresu u poruch mitochondriální ATPázy a vytvoření přehledu diagnostických přístupů u pacientů s podezřením na mitochondriální onemocnění. Všechny tyto cíle byly splněny.

MUDr. Ješinovi se podařilo ve spolupráci se zahraničními pracovišti shromáždit a klinicky a laboratorně popsat unikátní soubor pacientů s poruchou mitochondriální ATPázy spojenou s mutacemi v genu *TMEM70* a dále popsat pacienty s extrémně vzácnými patogenními variantami v genech *MTATP6*, *ATP5F1E* a v genu kódující mitochondriální tRNA pro serin. U pacientů byla provedena korelace fenotypu (tj. tíže a věku nástupu příznaků onemocnění) s identifikovaným genotypem a rovněž i se stupněm heteroplazmie. Tyto výsledky významně rozšířily spektrum popsaných onemocnění mitochondriální ATPázy.

Klinické příznaky poruch mitochondriální ATPázy jsou velmi různorodé a většinou velmi nespecifické, kdy patogenní varianty v jednom genu mohou vést k širokému spektru klinických příznaků a naopak podobný klinický obraz může být způsoben patogenními variantami v různých genech, a nelze tedy jednotlivým klinickým příznakům přiřadit určitý asociovaný gen. Z tohoto důvodu Dr. Ješina ve spolupráci se svými kolegy zavedl do praxe celou řadu diagnostických přístupů založených na hodnocení nálezů klinických, zobrazovacích (magnetická rezonance centrální nervové soustavy), biochemických (stanovení hladin laktátu, amoniaku, jaterních enzymů, kreatinkinázy, alaninu, metabolitů Krebsova cyklu), funkčních (imunohistochemická detekce ATPázového komplexu, enzymů OXPHOS, jednotlivých podjednotek ATPázy; měření produkce ATP, enzymových aktivit komplexu OXPHOS, mitochondriálního membránového potenciálu), histopatologických a molekulárně genetických (cílená masivní paralelní sekvenace souboru asociovaných genů). Na základě

výsledků analýzy uvedených diagnostických přístupů u pacientů s potvrzenou mitochondriální poruchou vytvořil Dr. Ješina diferenciálně diagnostický algoritmus pro rozpoznání mitochondriálních onemocnění s cílem urychlit a zefektivnit diagnostický proces a při současných omezených léčebných možnostech poskytnout genetické poradenství a prenatální diagnostiku v postižených rodinách.

Habilitační práce přehledně shrnuje výsledky autora vzniklé za dobu více než 15 let. Jedná se jak o retrospektivní studie souboru pacientů s mitochondriálními onemocněními, tak i o nové pacienty a doposud nepublikované kazuistiky. Práce a výsledky autora jsou významné jak z pohledu základního výzkumu (rozšíření poznatků o mitochondriální ATPáze, objev asociovaného genu *TMEM70*, objasnění patobiochemických procesů spojených s energetickou deprivací a zvýšeným oxidativním stresem u poruch mitochondriální ATPázy) tak z pohledu pacientů a jejich rodin (včasná diagnostika, možnost predikce průběhu onemocnění, genetické poradenství). Habilitační práce je zpracovaná na vysoké věcné i formální úrovni. Doporučuji práci přijmout v předložené formě a na jejím základě doporučuji udělit titul docent pro obor klinická biochemie.

V Brně dne 9. března 2018


Lenka Fajkusová

Na autora mám jeden dotaz, který souvisí se sekvenční variantou m.8527A>G, která byla detekována v iniciačním kodónu genu *MTATP6* a vede k záměně tripletu AUG na GUG. Následné analýzy vzorků kožních fibroblastů pacienta neprokázaly patogenní efekt této varianty. V textu je dále uvedeno, že je možno spekulovat, že kodón CUG může být využit jako alternativní iniciační kodón u mitochondriální DNA. Považujete tedy identifikovanou sekvenční variantu za spíše patogenní nebo spíše benigní nesouvisející s onemocněním pacienta? Zkoušeli jste provést analýzu mRNA genu *MTATP6* u tohoto pacienta? Setkal jste se s podobným problémem (ve své praxi nebo v literatuře) při molekulárně biologické diagnostice jiných onemocnění?