



UNIVERZITA KARLOVA
I. lékařská fakulta

Oponentský posudek diplomové práce Bc. Barbory Kudrnovské „Využití ketogenní diety u dědičných poruch ATP syntázy“

Předkládaná diplomová práce představuje výsledky původního výzkumu zaměřeného na využití a analýzu efektu modifikované ketogenní diety jako terapeutické intervence na myším modelu deficitu F_1F_0 -ATP syntázy (dále jen ATP syntázy) způsobeného absencí asemblačního proteinu Tmem70.

Hodnocení výsledků z hlediska tvůrčího přínosu

Práce je postavená na myším modelu tamoxifenem indukovaného celotělového knock-outu Tmem70 vedoucím k deficitu ATP syntázy s velmi nepříznivým dopadem na organismus a celkovou dobu přežití. V návaznosti na předchozí výsledky laboratoře práce podrobně rozpracovává efekt modifikované ketogenní diety na širokou škálu parametrů: dobu přežití zvířat, hladiny klíčových plazmatických markerů, na množství a aktivitu ATP syntázy a mitochondriální respiraci v játrech a svalu. Výsledky představují důležitý základ pro detailní porozumění změn v metabolismu vlivem ketogenní diety, která je využívána i u pacientů s mitochondriálním onemocněním, včetně deficitu TMEM70.

Formální kvalita diplomové práce

Po formální stránce je práce na velmi vysoké úrovni včetně veškerých obrázků a grafů. Jediným nedostatkem jsou popisky tabulek, které by podle mého názoru měly být umístěny nad tabulkami (např. str.40-41).

Jazyk

Práce je psaná česky, gramaticky správně. V tak rozsáhlém textu jsem zjistila pouze jednu gramatickou chybu (str. 25 – mělo by být Židé, místo židé) a jednu chybějící koncovku (str.79 – mělo by být narušení prenatálního vývoje, místo narušení prenatální vývoje).

Hodnocení částí diplomové práce

Teoretický úvod

Tato část shrnuje na 36 stranách širokou od stručného popisu vzniku a funkce mitochondrií, mitochondriální DNA, systém oxidační fosforylace, biogenezi ATP syntázy. Autorka nás seznamuje s mitochondriálními onemocněními, zejména s genetickými příčinami deficitu ATP syntázy a nakonec i s principem ketogenní diety a jejími různými modifikacemi včetně jejího využití v medicíně. Autorka zpracovala více než 300 citací a opírá se tak práce klasické tak zcela recentní z roku 2023. K této části mám několik drobných připomínek. U patogenních variant v mtDNA není vždy dodržen správný zápis ve stylu „m.3234A>G“ (na straně 20 a 35 chybí m. před číslem/pozicí varianty, ale např. na straně 23 jsou varianty zapsané správně). Dále také nejsou jednotně zapsané názvy genů kódovaných lidskou mtDNA (správně jsou uvedeny v tabulce 1.1, ale v textu např. str. 22-23 je zápis chybný – chybí „MT-“). Autorka také velmi podrobně uvedla aktuálně známe patogenní varianty v jaderně kódovaných genech pro podjednotky a asemblační faktory ATP syntázy (str. 23-27), což vyžaduje značné úsilí. Bohužel pro čtenáře je zrovna tato podkapitola poměrně náročná. Do budoucna bych doporučila tento typ informací spíše organizovat do tabulky než do volného textu. Dále také uvedení patogenních variant pouze na úrovni cDNA (tedy zápis c.336T>A) je i pro mírně poučeného čtenáře málo informativní, protože dopad varianty si lze představit pouze u malého typu mutací (sestříhových, delecí nebo inzercí). Podle mého názoru je proto dobré v textech uvádět zápis patogenní varianty (také) na úrovni proteinu. Výše uvedené jsou pouze drobná doporučení a celý teoretický úvod je na vysoké úrovni a velmi informativní.

Materiál a metody

Popis použitých metod je dostatečně podrobný pro přesné pochopení experimentálního postupu, vše je doplněno i informativními diagramy.

Výsledky

Autorka prezentuje své výsledky ve 20 obrázcích, často i složených. Popisky obrázků jsou dostatečně podrobné. Je patrné, že bylo získáno velké množství dat, většina vypovídá o vynikající metodické úrovni. Data byla pečlivě zanalyzována, vyhodnocena a jsou srozumitelně popsána v textu. Prezentace dat je velmi kvalitní i na grafické úrovni.

Diskuze

Tato část je dostatečně rozsáhlá a dokládá autorčin přehled v dané problematice. Z textu je patrné, že autorka je schopná kriticky zhodnotit svá data a porovnat je s literaturou.

Bc. Barbora Kudrnovská v předložené diplomové práci prokázala velmi dobrou znalost řešené problematiky a její práce přinesla poznatky, které umožňují formulovat nové hypotézy pro další vědeckou práci. Proto dle mého názoru předkládaná diplomová práce splňuje nároky k udělení magisterského titulu.

K práci mám následující dotazy:

- 1) Ketogenní dieta je postavena na principu omezení příjmu sacharidů, a naopak posílení příjmu tuků jako hlavního energetického zdroje. V teoretickém úvodu popisujete poměrně podrobně převážně benefity jejího terapeutického použití na buněčné modely a na různé tkáně, s výjimkou mozku. Jaký je dopad ketogenní diety na tuto tkáň, bylo to někdy studováno na zvířecích modelech?
- 2) Deficit Tmem70 má zásadní dopad i na mitochondriální ultrastrukturu. Domníváte se, že aplikace modifikované ketogenní diety po dobu 8 týdnů bude mít dopad na uspořádání krist ve studovaných tkáních? Plánujete případně i doplnit mikroskopické analýzy?
- 3) Ve vašich experimentech nasazujete modifikovanou ketogenní dietu 2 týdny před indukcí Tmem70 knock-outu, tedy z pohledu humánní medicíny hluboko před nástupem onemocnění. Proč jste se rozhodli pro právě tento design? Jaký by mělo vliv nasazení ketogenní současně s indukcí nebo bezprostředně po ní?

V Praze, dne 5.2.2024

Ing. Markéta Tesařová, PhD
Klinika pediatrie a dědičných poruch metabolismu
1. LF UK