

Vážený pan

Prof. MUDr. Stanislav Štípek, DrSc.

Předseda oborové rady doktorského studijního programu

biochemie a patobiochemie

Univerzita Karlova v Praze

Děkanát 1. lékařské fakulty

Kateřinská 32

Praha 2

121 08

Oponentský posudek na dizertační práci

Název: Genetic causes of cytochrome c oxidase deficiency in children

Autor: Mgr. Alžběta Vondráčková

Klinika dětského a dorostového lékařství, Univerzita Karlova v Praze, 1. lékařská fakulta a Všeobecná fakultní nemocnice v Praze

Oponent: Doc. MUDr. Dagmar Procházková, Ph.D.

Pediatrická klinika LF MU Brno a FN Brno

Dizertační práce Mgr. Alžběty Vondráčkové je koncipována jako souborná práce, která je rozdělena na úvod, cíle práce, materiál, metodiku, výsledky, diskuzi, závěr a význam pro praxi. Součástí textu je seznam použité literatury a shrnující abstrakt. Práce zahrnuje 91 stran textu. V příloze jsou uvedeny publikace in extenso autorky. Předložená práce podává ucelený pohled na zkoumanou problematiku. Velmi zajímavé jsou původní práce autorky v časopisech s definovaným impact faktorem (IF=2,365; resp. 4,319).

Doktorská dizertační práce je zaměřena komplexně na význam molekulárně-genetického vyšetření pro diagnostiku mitochondriálních poruch u dětí, což je vysoce specifická problematika dětského věku. Téma práce je aktuální z hlediska vědeckého a současně z možnosti klinické aplikace. Úvodní část s literárním přehledem je psána přehledně, jasně a vede k definici cílů práce. Pojednává o současném stavu poznání a čtenář získává nové poznatky o této problematice. Z dizertační práce je jasné

patrně, že její cíle zaměřené na poměrně specifické problémy dědičných poruch metabolismu, konkrétně poruch mitochondriálních, byly splněny. Jedná se o složitý proces, náročný časově i finančně. Výsledky jsou prioritní a zásadní pro další rozvoj v této oblasti. Komentář k výsledkům práce je psán jasně, což je ku prospěchu věci. Autorka vysvětlila a komentovala nejvýznamnější výsledky přiložené práce: komplexní diagnostiku mitochondriálních poruch v České republice, tj. rozšíření stávající diagnostických přístupů o analýzu genů spojených s nejčastějšími typy a o metody. Soubor tvořilo 60 nepříbuzných dětí z České republiky s biochemicky popsanou poruchou, tj. deficitem cytochrom c oxidázy (COX). Jednalo se o 17 dětí s izolovaným a 43 dětí s kombinovaným deficitem cytochrom c oxidázy, převážně v novorozeneckém věku. Cílem práce bylo zjistit genetickou příčinu mitochondriálního onemocnění u těchto probandů. Metodikou high-resolution melting (HRM analysis) byly identifikovány 4 heterozygotní varianty v exonech genů COX4I2, COX5A, COX7A1 a COX10, které byly označeny jako patologické a byly podrobeny další analýze. Pomocí SNP (Single-Nucleotide Polymorphism) DNA mikročipu byly nalezeny patologické delece genů TYMP, SCO2 a PUS1 u 4 z 16 dětí. Delece byly u dvou dětí kombinovány s missense mutacemi v genech TYMP a SCO2. Výsledkem mutačního screeningu mitochondriálního exomu provedeného na genomové DNA u 25 dětí (z 57) bylo nalezení kauzálních mutací u 5 pacientů v genech AARS2, TSFM, TK2, AIFM1 a MGME1. U dalších 5 pacientů umožnila technologie Next-Generation Sequencing (NGS) výběr kandidátních sekvenčních variant v genech ACOX2, UQCRH, QARS, SUCLG2 a ACBD3. Jejich patogenita však ještě musí být v budoucnosti experimentálně potvrzena. Na závěr lze shrnout, že genetická podstata deficitu cytochrom c oxidázy (COX) byla objasněna u 9 dětí.

V současnosti je dostupnou léčbou mitochondriálních poruch pouze léčba symptomatická. Kauzální léčba není dosud známa. O pacienty pečují tým odborníků, který zahrnuje pediatry, biochemiky, klinické genetiky, molekulární genetiky a další. Práce uchazečky umožnila v některých případech konečné potvrzení diagnózy u této skupiny mitochondriálních chorob. Využití výsledků v genetickém poradenství a možné preimplantační diagnostice v rámci genetického poradenství v postižené rodině je však složité.

Po stránce formální úpravy je práce velmi pečlivě a přehledně zpracována, včetně vysvětlivek.

Vzhledem ke skutečnosti, že práce je založena na publikacích v časopisech s kvalitním recenzním řízením, se následující dotazy vztahují k doktorské dizertační práci jako celku a k některým jejím obecnějším souvislostem.

Otázky pro autorku:

**1/ Můžete popsat současné časové a finanční náklady na molekulárně-genetickou diagnostiku mitochondriální poruchy u jednoho pacienta?**

**2/ V práci uvádíte písemné práce. Byly výsledky Vaší práce předneseny i ústně odborné veřejnosti?**

**3/ Můžete popsat současné možnosti genetického poradenství a možné prenatální, resp. preimplantační diagnostiky mitochondriálních poruch se zřetelem na Vámi studovanou problematiku?**

Závěr:

Předkládaná dizertační práce je velmi kvalitní dílo, shrnující výsledky vlastní práce uchazečky, které autorka publikovala v mezinárodních časopisech s definovaným impact faktorem. Dizertační práce tak prokazuje předpoklady autorky k samostatné tvůrčí vědecké práci, splňuje požadavky kladené na dizertační práci v oboru biochemie a patobiochemie a k udělení titulu „Ph.D.“ za jménem. Proto doporučuji práci k obhajobě a k dalšímu řízení ve smyslu příslušné legislativy.

V Brně, dne 10.února 2014

  
Doc.MUDr. Dagmar Procházková, Ph.D.