

Oponentský posudek dizertační práce

Autor práce: MUDr. Jakub Sikora

Název práce: Novel aspectss of molecular biology and patology of lysosomal storage disorders. Studies with partial use of Caenorhabditis elegans

Oponent: prof. MUDr. Jiří Zeman,DrSc

Dizertační práce MUDr. Jakuba Sikory „Novel aspectss of molecular biology and patology of lysosomal storage disorders. Studies with partial use of Caenorhabditis elegans.“ se zabývá problematikou lysosomálních onemocnění, která představují klinicky, biochemicky i molekulárně heterogenní skupinu 48 dědičných poruch metabolismu. Téma lysosomálních onemocnění se v poslední době dostalo do popředí zájmu odborné i laické veřejnosti nejen pro nové diagnostické možnosti, které vedou k hlubšímu porozumění etiopatogeneze jednotlivých lysosomálních onemocnění, ale i pro nové léčebné možnosti, protože prognóza postižených pacientů byla až donedávna krajně nepříznivá.

MUDr. Jakub Sikora se systematicky zabývá problematikou celulární patologie u lysosomálních onemocnění a pro dizertační práci si vybral tři okruhy otázek, které byly zaměřeny na a) význam „saponin-like proteins“ pro lysosomální biologii a patologii, b) využití bioinformatiky při studiu „acetyl-coenzyme A:alfa-glucosaminide N-acetyltransferase“ (protein HGSNAT) u pacientů s mukopolysacharidózou typ III C a c) možnosti využití Caenorhabditis elegans jako modelového organismu pro studium lysosomálních poruch. Specifickým cílem disertační práce byla snaha charakterizovat neuropatologické projevy onemocnění u dětí s deficiencí prosaposinu, studovat u pacientů s Niemann-Pickovou nemocí typ A a typ B korelaci mezi fenotypem a genotypem, detailně analyzovat HGSNAT na proteinové úrovni a na biochemické a buněčné úrovni charakterizovat alfa-galaktosidázu a alfa-N-acetyl-galaktosaminidázu na modelu u C.elegans.

Práce je sice rozdělena do 10 kapitol, ale především s ohledem na 3 hlavní autorem studované okruhy je strukturována na samostatně diskutované oblasti zaměřené na a) prosaposin, saponin a kyselou sfyngomyelinázu, b) acetyl-coenzyme A:alfa-glucosaminide N-acetyltransferázu a c) C.elegans jako model pro studium lysosomálních poruch. Osmá kapitola obsahuje 255 nejvýznamnějších citací k diskutované problematice, devátá kapitola

obsahuje seznam 11 vlastních publikací a řadu abstrakt k danému tématu a v poslední kapitole je přiloženo „in extenso“ 6 publikovaných prací ke studovanému tématu.

MUDr. Jakub Sikora přináší v každém ze tří předložených okruhů z oblasti lysosomálních onemocnění především výsledky vlastních studií, které byly získány pomocí široké palety metod s použitím řady biochemických, molekulárních a imunochemických přístupů včetně bioinformatiky a které byly recenzovány a publikovány v renomovaných časopisech typu *Am J Hum Genet* 2006 (IF 12,6), *BMC Cell Biol* 2005 (IF 2.65), *Ann Hum Genet* 2003 (IF 3.19), *Acta Neuropathol* 2007 (IF 2.57) atd. Pokud dobře počítám, součet jeho IF je již nyní vyšší než 32, což také, kromě jiného, dokumentuje význam získaných výsledků během PhD studia.

Na předložené dizertační práci kromě vlastních výsledků autora a z nich plynoucích publikací velice kladně hodnotím kritický přístup MUDr. Jakuba Sikory k hodnocení významu jednotlivých metod používaných pro studium etiopatogeneze lysosomálních onemocnění a snahu jasně formulovat otázky a problémy, aby nedošlo k překrývání pojmů s rizikem falešné interpretace.

K předložené práci MUDr. Jakuba Sikory mám jen několik drobných připomínek. Především musím říci, že vložení nečíslovaných abstrakt a prvních stránek vlastních publikací do vlastního textu mi zpočátku činilo velké čtenářské obtíže, ale časem jsem si zvykl. Podle posledních studií se zdá, že výskyt lysosomálních onemocnění v populaci je $> 1: 3000$, tedy významně vyšší než $1: 6000$, což je v práci uvedeno podle staré citace z roku 1999. Autor ve své jinak významné práci z oblasti neurolysosomální patologie u zemřelých dětí s deficiencí prosaposinu diskutuje neuropatologické změny v závislosti na délce přežití (= 27 až 119 dní), ale tyto výsledky nekoreluje s délkou gestace, jak je v neonatologii i pediatrii zvykem. Také rozdílná kvalita intenzivní a resuscitační péče mohla teoreticky ovlivnit získaná data.

Na autora mám i několik otázek:

Ačkoliv „turecké“ i „primárně holandské“ rodiny s Niemann-Pickovou nemocí patří do stejné indoevropské populace, je otázka, zda při studiu „wild-type allele“ lze použít jen jednu kohortu kontrol (o velikosti 100). Je známo, že výskyt některých polymorfismů nebo mutací v populaci se může mezi vzdálenými regiony významně lišit.

Zajímalo by mne, zda nález „neuronal loss“ u dětí s deficiencí prosaposinu se může překrývat s nálezy na CNS u dětí s poruchami „neuronal migration“ nebo s nálezem poliodystrofie u dětí s Alpersovým syndromem a deplecí mtDNA.

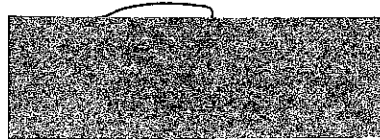
V nedávné době jsem viděl těžce nemocného kojence s projevy acrodermatitis enteropathica na podkladě těžkého deficitu zinku. Mohl deficit zinku u pacienta negativně ovlivnit funkci ASM, a tím i jeho gastrointestinální, kožní nebo neurologické projevy?

Mohl deficit zinku u pacienta negativně ovlivnit funkci ASM, a tím i jeho gastrointestinální, kožní nebo neurologické projevy?

Závěr

MUDr. Jakuba Sikora prokázal při řešení disertační práce nejen schopnost samostatné vědecké práce ale i umění kriticky interpretovat vlastní výsledky a konfrontovat je s nejnovějšími poznatky z literatury. Velice kladně hodnotím, že MUDr. Jakuba Sikora v laboratoři ÚDMP zavedl a optimalizoval několik nových metod využitelných jak pro diagnostiku lysosomálních onemocnění tak i pro studium jejich biochemické a molekulární podstaty. Kromě jiného se podílel i na objevu molekulární podstaty mukopolysacharidózy Sanfilippo typ III C, což bylo poslední lysosomální onemocnění bez známého genu.. Tato práce ale i další publikované výsledky jeho studií již mají konkrétní dopad na genetické poradenství v rodinách s dědičnými poruchami metabolismu na podkladě strádání.

Na základě výše uvedených skutečností doporučuji Oborové radě a její „Komisi pro obhajobu disertačních prací“ aby předložená disertace byla přijata jako podklad k udělení titulu PhD.



Praha 2.4..2007

prof. MUDr. Jiří Zeman, DrSc