Oponentský posudek disertační práce

Předkládá: **Mgr. Lenka Hromádková**

Doktorské studijní programy v biomedicíně
Univerzita Karlova a Akademie věd České republiky

Název práce:
Tau protein, biomarker Alzheimerovy choroby: *in vitro* fosforylace a charakterizace tau reaktivních protilátek

Téma disertační práce je velmi aktuální. Alzheimerova choroba (AD) představuje již nyní závažný medicínský a sociální problém, jehož význam v blízké budoucnosti dále poroste. Na příkladu AD můžeme dobře dokumentovat postupný vývoj našeho poznání v této oblasti.

Předkladatelka v úvodu podává velmi zdařilý popis fyziologických i patofyziologických mechanismů, které jsou podle současného názoru pro vznik a rozvoj AD podstatné. Správně dovozuje, že normální i molekulárně alterované tau proteiny jsou identifikovány imunitním systémem a tělo na ně reaguje zánětlivou reakcí. Zatímco za fyziologických okolností můžeme hovořit o ochranném zánětu, který má za úkol kontrolovat a udržovat homeostázu těchto pro struktury CNS významných molekul, za patofyziologických okolností dochází k rozvoji poškozujícího zánětu se všemi důsledky. Předkladatelka v molekulovém detailu poskytuje informace o struktuře tau proteinu. Zdůrazňuje, že jeho primární struktura obsahuje aminokyselinové zbytky, na kterých dochází k nejvýznamnější posttranslační modifikaci, tj. fosforylaci. Právě hyperfosforylované tau proteiny jsou jedním z důvodů rozvoje poškozujícího zánětu u nemocných s AD. Další příčinou je schopnost alterovaných molekul tau proteinu vytvářet agregáty. K abnormální imunitní odpovědi vede i proteolytické štěpení nativní molekuly tau proteinu.

Cílem vlastní experimentální práce bylo detekovat a charakterizovat přirozeně se vyskytující protilátky, které reagují s tau proteinem u zdravých lidí i u nemocných s AD. Analyzována byla rovněž přítomnost těchto protilátek v léčebném imunoglobulinovém preparátu určeném pro nitrožilní podání. Důvodem jsou předběžné údaje, že aplikace IVIG pozitivně modulují průběh AD. Analyzovala zastoupení jednotlivých podtříd IgG, který je přirozeně zcela převažující v IVIG, jejich aviditu a reaktivitu s různými formami tau proteinu. Metodou epitopového mapování byly hledány konkrétní epitopy tau proteinu, s kterými přirozené protilátky s tau proteinem interagují. Byl identifikován fragment tau proteinu, který

vykazuje proagregační aktivity a hydrofobní úsek s vysokou mírou nespecifické sorpce. Experimentálně byla řešena i příprava tau proteinu s definovanými fosforylačními místy, s ohledem na již zmíněný význam této posttranslační modifikace v biologii tau proteinu.

Náročnými experimenty byly získány výsledky, které byly publikovány v časopisech s IF. Ty jsou doloženy jako součást disertační práce. Je nepochybné, že skutečnost, že tyto práce prošly náročným recenzním řízením, je dokladem původnosti vědecké činnosti předkladatelky. Jasně kvalifikují schopnost Mgr. Lenky Hromádkové realizovat biomedicínský výzkum.

Závěr

Doporučuji přijmout hodnocenou disertační práci jako základ pro obhajobu v rámci doktorského studia a hodnotím ji jako výbornou.

V Hradci Králové dne 30.5.2018

Prof. RNDr. Jan Krejsek, CSc.
přednosta
Ústav klinické imunologie a alergologie
Lékařská fakulta a Fakultní nemocnice
Hradec Králové