



UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE
1. LÉKAŘSKÁ FAKULTA

ÚSTAV PATOLOGICKÉ FYZIOLOGIE

128 53 PRAHA 2, U Nemocnice 5

Přednosta: Prof. MUDr. Emanuel Nečas, DrSc.

Oponentský posudek na disertační práci Mgr. Karly Jarkovské

Disertační práce Mgr. Karly Jarkovské „Proteomika biologických tekutin“ byla vypracována v Ústavu živočišné fyziologie a genetiky AVČR v.v.i. v Liběchově. Školitelkou byla RNDr. Hana Kovářová, CSc. Text je psán česky, celkový rozsah práce je 92 stran včetně příloh.

Jedná se o disertační práci založenou na publikovaných výsledcích doplněných komentářem s adekvátními literárními odkazy. Podkladem jsou dvě původní výzkumné práce a jeden přehledný článek, všechny publikované v uznávaných mezinárodních časopisech (IF 3,5 - 5,4). Součástí práce je navíc i jedna národní patentová aplikace. Kandidátka je první autorkou obou zmíněných výzkumných článků, na přehledném článku a patentové aplikaci se podílela jako spoluautorka. Všechny podklady jsou součástí práce v podobě příloh.

Těžištěm práce (1 review + 2 původní publikované články) je proteomická analýza folikulární tekutiny v kontextu asistované reprodukce a s ní souvisejícího ovariálního hyperstimulačního syndromu.

Úvod práce je velmi stručný a zahrnuje problematiku neplodnosti, asistované reprodukce a aplikace proteomických technik na tomto poli. Přehledný článek (první příloha) je vhodným doplněním tohoto úvodu.

Cílem práce bylo 1) popsat rozdíly ve složení dvou biochemicky blízkých tělních tekutin - krevní plazmy a folikulární tekutiny a 2) nalézt změny ve složení folikulární tekutiny u žen s ovariálním hyperstimulačním syndromem (OHSS) v porovnání s ženami bez OHSS za účelem identifikace molekulárních mechanismů OHSS a nalezení potenciálních diagnostických či prognostických biomarkerů.

Kandidátka použila k proteomické analýze inovativní kombinaci dvou paralelních přístupů – klasické dvourozměrné elektroforézy a dvojrozměrné HPLC (systém PF2D) - v kombinaci s hmotnostní spektrometrií. Tělní tekutiny byly analyzovány po imunodepleci majoritních proteinových složek, aby analýza postihla i méně hojné proteiny.

Práce, která měla za cíl popsat rozdíly ve složení folikulární tekutiny a krevní plazmy, odhalila zajímavou skutečnost – snížené množství některých proteinů komplementu a také snížení biologické aktivity komplementu ve folikulární tekutině v porovnání s krevní

plazmou. Zajímavým zjištěním je také odlišné zastoupení různých forem bílkovin clusterinu a perlecanu s rozdílnou migrací na 2-DE.

Druhý původní článek dokumentuje identifikaci odlišností ve složení folikulární tekutiny u žen s ovariálním hyperstimulačním syndromem (OHSS) v porovnání s ženami bez OHSS. Práce přináší, s použitím podobných proteomických postupů, tedy 2-DE a PF2D, výčet bílkovin se změněnou koncentrací ve folikulární tekutině u žen s OHSS v porovnání s ženami bez této komplikace. Pomocí specifických protilátek se však nepodařilo potvrdit statisticky významné rozdíly v jejich koncentraci, dle vyjádření autorky je to buď z důvodu značné inter-individuální variability složení FF u pacientek a/nebo z důvodu přítomnosti více forem jednoho proteinu z nichž jako diferenciatně přítomná byla proteomickými metodami identifikována pouze jedna (například minoritní frakce proteinu změněná postranslanční modifikací, s nezměněnou MW) a protilátka sloužící ke confirmaci přitom rozeznává všechny formy nebo formy odlišné od té která byla identifikována. Jak autorka správně naznačuje, další a hlavně rozsáhlejší studie budou nezbytné k potvrzení získaných výsledků.

Čtvrtou částí předkládané práce je národní patentová aplikace. Pro předkládanou práci ji považuji za poněkud nadbytečnou, především pro její tématickou odlišnost a nedostatek detailů nezbytných k jejímu posouzení.

Nemám žádné zásadní připomínky k předkládané práci, která splňuje kritéria k udělení titulu Ph.D. Experimentální výsledky byly získány pomocí nových proteomických metod, z části běžně používaných, z části vyvinutých či obměněných výzkumným týmem. Práce je logicky dobře uspořádána a tam, kde je to nezbytné, je text doplněn ilustrativními barevnými schémata. Textu lze vytknout určitou stručnost a několik drobných nepřesností v úvodním textu. Rád bych také Mgr. Jarkovské položil několik otázek, které by mohly doplnit či vyjasnit některé technické aspekty práce:

1) Jaké jsou potenciální nevýhody imunodeplece majoritních sérových/plazmatických proteinů?

2) Výsledky analýzy tělních tekutin získané paralelně dvěma odlišnými metodami – 2-DE a PF2D se poměrně málo překrývají (jen 1 nebo 2 proteiny v obou studiích). Jak si tuto odlišnost vysvětlujete?

3) Jak se liší nebo shoduje celková koncentrace proteinu v nefrakcionované plazmě a folikulární tekutině? Jak jste případnou odlišnost v koncentraci zohlednili v případě funkčního hemolytického testu kaskády komplementu?

Závěrem mohu konstatovat, že **předkládaná disertační práce přináší inovativní kombinaci dvou proteomických přístupů k analýze tělních tekutin, ale i cenné nové informace biomedicínské. Předkládaná práce svědčí o schopnosti samostatné vědecké práce předkladatelky podle odstavce 4 paragrafu 47 Zákona o vysokých školách. Doporučuji proto přijetí práce k obhajobě a po úspěšném obhájení souhlasím s udělením titulu Ph. D.**

V Praze dne 24. 05. 2012

RNDr. Jiří Petrák, Ph.D.



Ústav patologické fyziologie 1. LF UK
jpetr@lf1.cuni.cz
Tel: 224 965 865