

Oponentský posudek doktorské disertační práce

Mgr. Evy Harazim

Univerzita Karlova v Praze

Přírodovědecká fakulta

Lipidomic analysis of vernix caseosa

Rozsah práce

Předložená disertační práce je vypracována v krátkém pojetí 60 stran doplněná o kopie publikovaných článků. Vlastní text se skládá z úvodu, definice cílů, přehledu materiálu a metodiky a shrnutí výsledků jak z publikovaných článků tak i z nepublikovaných dat. Mgr. Harazim je první autorkou jednoho článku a dvou sdělení, a dále spoluautorkou tří publikací. Další dvě práce jsou připravovány k odeslání. Podíl Mgr. Harazim na výsledcích v jednotlivých publikacích je odvoditelný z obsahu disertační práce a také přímo definován autorkou i školitelem. Celá práce je psána anglicky a její úprava plně vyhovuje obecným formálním požadavkům kladeným na disertační práci.

Obsah

Úvodní část předložené disertační práce je věnována literárnímu přehledu o současném stavu řešené problematiky. Podrobně jsou popsány současné poznatky v lipidomice, chromatografii i hmotnostní spektrometrii a přehledně představena i biologická matrice novorozeneckého mázku.

Hlavním cílem práce byla charakterizace lipidů v novorozeneckém mázku. Za tímto účelem předkladatelka optimalizovala extrakci lipidů z neobvyklé matrice, separační metody pro lipidové třídy i podtřídy, testovala různé transesterifikační postupy a na konec charakterizovala jednotlivé molekuly. Práce netestuje žádnou specifickou vědeckou hypotézu a věnuje se čistě analytickému rozboru identifikovaných lipidových tříd.

Výsledky jsou členěné přehledně a kombinují komentáře k již publikovaným pracem s rozbohem nepublikovaných dat. Velice kladně hodnotím postupnou charakterizaci známých i doposud nezdokumentovaných lipidových tříd, a to včetně identifikace polohy dvojných vazeb. Jmenovitě je autorka zabývala charakterizací triacylglycerolů, cholesteryl esterů omega hydroxy mastných kyselin, 1,2-diol diesterů a 1-O-acylceramidů a methyl esterů větvených mastných kyselin. Autorka se různou měrou zapojila do všech úrovní této komplexní charakterizace složení novorozeneckého mázku.

Otázky

- 1) Hrubá separace celkových lipidů byla provedena pomocí kolony se silikagelem. Pro detailní rozdělení lipidových podtříd jste použila i Florisil. Bylo by vhodné použít sorbent s horčíkem typu Florisil i na hrubou separaci?
- 2) Podařilo se Vám popsat nové cholesteryl estery omega (O-acyl) hydroxy mastných kyselin. Pozorovala jste ve vzorcích též nějaké prekurzory a nebo degradační produkty těchto sloučenin? Probíhá syntéza například jako omega hydroxylace cholesteryl esteru mastné kyseliny následované druhou esterifikací?
- 3) Podobná otázka se týká i 1,2-dioldiesterů. Pozorovala jste ve vzorcích volné 1,2-dioly a nebo dochází k hydroxylaci monoesteru?
- 4) Máte nějakou hypotézu na pozorování relativně velkého zastoupení acylů s lichým počtem uhlíků a větvení řetězců? Existuje pohlavně specifické zastoupení mastných kyselin i v jiných lipidových třídách?

- 5) V publikaci o acetonitrilových aduktech a pozici dvojných vazeb jste zmínila přílišnou komplexnost biologických vzorků a limitace použití této metody. Pokoušela jste se takto charakterizovat například triacylglyceroly z lidského tuku? Jaké další možnosti rozvoje této techniky plánujete testovat?
- 6) Ačkoli je v seznamu podkladů k disertaci zmiňována i práce s ozonem indukovanou fragmentací, není již dale rozvedena. Mohla byste shrnout výsledky relevantní k Vámi zmiňovaným lipidových třídám?

Závěr:

Předložená práce řeší aktuální problematiku z oblasti neonatální medicíny pomocí metod analytické chemie. Studie byly provedeny na pracovištích Ústavu organické chemie a biochemie AV ČR, Přírodovědecké fakulty UK, a během stáže též ve dvou laboratořích v Austrálii. Jedná se o velice kvalitní práci, která zavádí nové metody do lipidomiky. Vysoce hodnotím také aplikace těchto metod na vzorky z oblasti neonatologie, kdy se na unikátním materiálu podařilo charakterizovat několik nových lipidových podtříd. Cíle práce byly splněny, zahrnuté publikace a výsledky dokazují, že předkladatelka je seznámena s problematikou v dané oblasti a je schopna rozvíjet vědecké přístupy analytické chemie. Disertační práci doporučuji přijmout k obhajobě.

V Praze dne 19. srpna 2017

RNDr. Ondřej Kuda, PhD
Fyziologický ústav AV ČR v.v.i.
Oddělení biologie tukové tkáně
Vídeňská 1083
142 20 Praha 4