

Oponentský posudek disertační práce

Název práce: **Proteiny v těhotenství – molekulárně biologická a biochemická analýza**

Autor práce: Mgr. Alexandra Muravská
Univerzita Karlova v Praze, 1. lékařská fakulta

Hlavním cílem disertační práce bylo zavést metodiky analýzy vybraných polymorfizmů genu *PAPP-A* (*Pregnancy-Associated Plasma Protein A*), a dále zhodnotit jeho genetické pozadí i sérové koncentrace PAPP-A a PIGF (*Placental Growth Factor*) ve vztahu k patologickým těhotenstvím (preeklampsie, předčasný porod, intrauterinní růstová retardace a benigní těhotenská cholestáza) ve třetím trimestru gravidity. Dalším cílem bylo zavést metodiku dvourozměrné (2D) elektroforézy plodové vody.

Výstupem této disertační práce jsou 2 původní práce v časopisech s faktorem impaktu (IF=0.729 a IF=2.043). Na obou dvou je autorka uvedena jako první autor. Nadto, autorka je spoluautorem (v jednom případě i prvním autorem) dalších 5 publikací v mezinárodních časopisech s faktorem impaktu (IF v rozsahu 1.500 - 2.303) a 1 práce v časopisu bez IF, které s disertační prací přímo nesouvisejí.

Samotná práce je rozdělena do sedmi kapitol: 1. Úvod, 2. Cíle disertační práce, 3. Materiál a Metody, 4. Výsledky, 5. Diskuze, 6. Závěry, 7. Seznam citované literatury (144 citací). Kapitolám předchází Abstrakt v češtině a angličtině, Poděkování, Obsah a Seznam použitých zkratk. Za kapitolami je doplněn Seznam publikací doktoranda a Přílohy (dvě publikace). Disertační práce obsahuje 17 obrázků, 16 tabulek a 4 grafy.

Disertační práce obsahuje všechny náležitosti. Nejsou v ní zásadní formální chyby. Velice detailně je zpracována kapitola Materiál a Metody. Zahrnuje podrobný popis principů metod, použitých reagensů a pracovních postupů, což svědčí o tom, že se autorka s těmito laboratorními metodami teoreticky i prakticky dopodrobna seznámila.

Za velmi zajímavý výsledek výzkumu považuji nález konkordance mezi genotypem a fenotypem jednonukleotidového polymorfizmu Cys327Cys (rs12375498) genu *PAPP-A*, který je překvapivě v práci velice málo zdůrazněn. U pacientek s preeklampií byla nalezena signifikantně vyšší frekvence minoritní genotypu TT, který u zdravých těhotných kontrol vedl, oproti majoritnímu genotypu CC, ke zvýšeným sérovým hladinám PAPP-A. Vzhledem k tomu, že u pacientek s preeklampií byly zároveň zjištěny signifikantně zvýšené sérové koncentrace PAPP-A, můžeme shrnout, že zvýšené hladiny PAPP-A, ať fyziologicky dané genotypem nebo v důsledku patologické reakce, jsou asociovány s patogenezí preeklampsie. Fakt, že hladiny PAPP-A u nemocných nekorelují s genotypem polymorfizmu Cys327Cys, neodporuje tomuto nálezu, neboť za patologických podmínek abnormální buněčná stimulace a signalizace, která umocňuje genovou expresi, může zrušit - přebít vliv genotypu na transkripci a translaci.

Z formálních chyb bych chtěla upozornit na to, že správný výraz pro NT je nuchální translucence (nikoliv nuchální translucence). Občas se vyskytne v práci drobný překlep, např. na straně 74, řádek 19, je správně exonu (a nikoliv exomu).

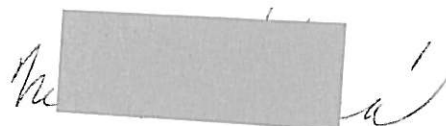
Předložená disertační práce se zabývá velice atraktivním tématem: možností proteomické analýzy mateřské krve a plodové vody a jejího využití pro účely diagnózy patologických stavů těhotenství, popřípadě prenatalní diagnostiky genetických chorob. Obecně, hledání nových přístupů s cílem včasné diagnózy patologického těhotenství, které umožní zavedení preventivních terapeutických opatření, se považuje za velice ambiciózní a významný projekt v prenatalní medicíně.

Dotazy a připomínky k disertační práci:

1. Jak si vysvětľujete, že synonymní jednonukleotidový polymorfizmus Cys327Cys (rs12375498) genu *PAPP-A* má svůj funkční význam (asociace s nemocí a se zvýšenými sérovými hladinami)?
2. Na stranách 79-80 rozebíráte problematiku proteomické analýzy plodové vody. Hned na začátku se zmiňujete, že: „V popředí zájmu stojí především získávání nových znalostí v oblasti fetálních aneuploidií“. Pokud však máte při podezření na Downův syndrom k dispozici plodovou vodu, je jednodušší provést přímou diagnostiku z karyotypu plodu než nepřímou z proteinových biomarkerů. V tomto případě by byla spíše zajímavější proteomická studie hledající nové biomarkery v mateřské krvi. Jaké závěry pro možnost diagnózy fetálních aneuploidií, vrozených vývojových vad, popřípadě i patologických těhotenství vyvodily studie, které se zabývaly analýzou biomarkerů v mateřské krvi?

Závěr: Disertační práce je prezentována ve dvou původních pracích publikovaných v časopisech s IF. Dále je zde uvedeno 5 publikací v mezinárodních časopisech s IF, které s disertační prací přímo nesouvisejí. Autorka je uvedena jako první autor celkem na třech publikacích, dvě z nich jsou součástí disertační práce. Disertace splňuje tedy všechna kritéria, a proto doporučuji udělení titulu PhD.

Posudek vypracován: 17. 2. 2012


Doc. MUDr. Marie Černá, CSc.
Ústav obecné biologie a genetiky
3. LF UK Praha