



JAN ČERNÝ

Associate Professor of Immunology

CHARLES UNIVERSITY, FACULTY OF SCIENCE

Department of Cell Biology

Viničná 7, 128 40 Praha 2

Czech Republic

Phone: (+420) 2 4106 1795

E-mail: jan.cerny@natur.cuni.cz

POSUDEK DIPLOMOVÉ PRÁCE Bc. KRISTÝNY SLABÉ

Role proteinů tepelného šoku v patogenezi placentální insuficience.

Předložená diplomová práce si klade za cíl přispět k nalezení prediktivních markerů placentální insuficience/těhotenských komplikací a logicky se zaměřuje na přístupný biologický materiál (tedy krevní plasmu pacientek a zdravých kontrol) a na rodinu molekul, u nichž je možné předpokládat, že jejich koncentrace se bude v případě placentálních patologií měnit (Hsp). Práce Kristýny Slabé navazuje na již obhájenou práci Mgr. Lenky Dvořákové, která sledovala míru genové exprese Hsp v plné placentální krvi. Kristýna Slabá pro svou diplomovou práci odsud přebírá část metodického know-how, novum její práce spočívá v širším spektru pacientek, jejich stratifikaci a hlavně zaměřením se na tzv. extracelulární mRNA, které by v ideálním případě mohly postihnout přímo jinak neinvazivně nepostižitelné rozhraní mezi matkou a vyvíjejícím se plodem. Představa, že za patologických podmínek se z trofoblastu uvolňují do mateřského krevního řečiště kvalitativně i kvantitativně odlišné populace molekul fetálního původu je relevantní, včetně toho, že se může jednat o mRNA, pro mne asi nejvíce zajímavější uzavřené ve váčcích apoptotického původu.

Práce je psána česky, celkem na 68 stranách, je členěna standardně a obsahuje požadované části. Práce obsahuje velké množství buď překlepů, nebo chyb, možná i v důsledku automatických oprav, v každém případě – hned na první straně např. „s těhotenskými komplikace“ nebo „se podílejí i genetické predispozici“, absence podnětu ve větě „Zprostředkovává...“. Kromě těchto lapsů, kterých je opravdu velké množství bych se chtěl autorky zeptat na následující konstatování obsažené v **literárním přehledu**:

1. *Opravdu je s ohledem na incidenci placentální nedostatečnosti rizikové těhotenství do 20 roku matky?*
2. *Opravdu lidský genom obsahuje více než 100 alel genu pro HLA-C?*
3. *Opravdu se v lidském genomu nachází několik alel genu matrixové metaloproteinázy?*
4. *Je MHC II třídy dobře znám svou úlohou v rozpoznávání cizích antigenů od vlastních?*
5. *Jaký by mohl být mechanismus pozorování, že dlouhodobá expozice spermatem téhož partnera či předcházející těhotenství se stejným partnerem vede ke snížení pravděpodobnosti preeklampsie?*
6. *Zmiňujete, že patofyziologické procesy spojené s placentální insuficiencí začínají již na konci prvního trimestru – nemohou se objevit ještě dříve?*

7. *Zmiňujete existenci extracelulárního Hsp27, je známo, jak se tento klasický cytosolický/jaderně lokalizovaný protein dostane ven z buňky?*

Považoval bych za vhodnější, kdyby kapitola „Vybrané těhotenské komplikace“ byla zařazena před kapitolu „Placentální insuficience“. Dále jsem postrádal alespoň stručnou zmínku o extracelulární mRNA, kterou se ve své práci snažíte kvantifikovat. Dle mého názoru se jedná o stále ještě obecně veřejnosti málo známý fenomén, navíc fenomén velice zajímavý, kde je možné předložit zajímavé pro diplomovou práci zajímavé kauzality. *Zde bych se chtěl zeptat, jak tento pojem sama vnímáte – adjektivum extracelulární alespoň u mne evokuje volnou molekulu, která překonala membránovou bariéru a není uvnitř žádného váčku, který by byl kontinuitou původní buňky – tedy ani váčku apoptotického...*

K metodické části mám opět několik dotazů:

1. *Proč a jak byl jako kontrola pro kvantifikaci mRNA zvolen β -aktin. Myslíte si, že stačí jediná kontrola?*
2. *Proč se v RT-PCR experimentech voda ošetřuje diethylpyrokarbonátem?*
3. *Jaká byla kritéria výběru použitých statistických metod?*

Výsledky jsou shrnuty na 7 stranách, přičemž všechny jsou získány pomocí jedné metodiky na poměrně velice širokém vzorku pacientek. U patologií je možné pozorovat značné rozptyly dat, otázka, která se nabízí je množství vstupního materiálu/molekul mRNA ve vzorcích a tedy skutečná statistická průkaznost získaných dat a možnost využití pro reálné predikce. Tohoto omezení je si autorka vědoma, na čtyřech stranách své výsledky diskutuje a uzavírá, že Hsp70 by mohl být vhodným plasmatickým markerem pro diagnostiku preeklampsie a gestační hypertenze.

V práci je citováno více než 100 literárních zdrojů, z nichž některé jsou barvou písma zvýrazněny jako reviews. Minimálně v několika dalších případech je ale možné další články identifikovat jako reviews! Překvapilo mne, že autorka necituje žádné práce z laboratoře, odkud pochází (s výjimkou diplomové práce své předchůdkyně Mgr. Lenky Dvořákové), např. přehledový článek své školitelky na téma, které sama zpracovala...

Na závěr bych chtěl konstatovat, že předložená diplomová práce je zajímavým příspěvkem k tématu predikce těhotenských patologií s důrazem na využití v krevní plasmě lokalizovaných mRNA vybraných proteinů teplotního šoku. Tuto práci doporučuji k obhajobě, bohužel však nemohu díky formálním a částečně faktickým nedostatkům a dále relativně omezenému metodickému rozsahu doporučit hodnocení výborně.

Doc. RNDr. Jan Černý