

POSUDEK NA DISERTAČNÍ PRÁCI

Název práce: „Patologie a fyziologie de novo syntézy purinů“

Autor: Mgr.Matyáš Krijt

Oponent: odb.as. MUDr.Ivan Šebesta, CSc

Práce se zabývá biochemickými a molekulárně genetickými aspekty tzv.syntézy purinů *de novo* (DNPS) , zejména z hlediska diagnostiky dědičných poruch tohoto metabolismu. V úvodu je popsán purinový metabolismu a současný stav vědomostí o dané syntéze. Dále jsou charakterizovány dosud detekované genetické defekty v této metabolické dráze.

Na základě hypotézy predikující mutace v pěti ze šesti možných genů v uvedené dráze, byla provedena syntéza substrátů (včetně defosforylace) a jejich izotopicky značených analogů. Tato část je velmi přínosná, neboť řada substrátů není komerčně dostupná. Následně byly substráty využity pro vývoj diagnostické metody pomocí techniky LC-MS/MS. Dále byly vyvinuty modely lidských buněk, které simulují poruchy DNPS. V rámci mezinárodní spolupráce byl charakterizován nový deficit - bifunkčního enzymu (PAICS). Též byly stanoveny fyziologické hodnoty substrátů DNPS detekovaných v moči a v suché kapce krve, což je důležitým krokem pro zefektivnění diagnostiky dědičných defektů tohoto typu metabolismu.

Práce jako celek působí solidním dojmem, je přehledná, srozumitelná. Práci bych jen vytknul nedostatek v úvodu, který popisuje syntézu *de novo*. Není zde uvedena odlišnost v různých buňkách (např.erytrocyty nedovedou syntetizovat 5-fosforibosylamin a tato syntéza *de novo* zde neprobíhá) . Téma je aktuální, neboť se jedná o poměrně nová onemocnění a též nové poznatky v této metabolické dráze mohou přispět i k výzkumu v oblasti maligních onemocnění. V praktické části práce pak velmi oceňuji širokou paletu aplikovaných biochemických a genetických technik. Na počátku zadané cíle byly dosaženy a závěry práce se jeví jako inspirace pro další vědeckou práci a rozvoj dané problematiky.

Výsledky práce jsou přínosné pro praxi zejména tím, že výrazným způsobem přispívají k diagnostice dědičných onemocnění v uvedené oblasti metabolismu purinů.

Předložená disertační práce prokazuje předpoklady autora k samostatné tvořivé vědecké práci a k udělení titulu „Ph.D.“ za jménem.

v Praze dne 15.4.2021

odb.as.MUDr.Ivan Šebesta,CSc
ÚLBLD 1.LF UK a VFN Praha

Dotazy:

K biochemii: u jakého genetického defektu je syntéza *de novo* naopak urychlena a jakým mechanismem?

K diagnostice :

vzácný výskyt uvedených onemocnění v kombinaci se značnou nedostupností dg.metod je velkým handycapem pro efektivní diagnostiku. Navíc nespecifičnost symptomů je též důvodem, že lékaři v první linii stále ještě neberou tato onemocnění do dif.dg. rozvahy. Bylo by možné shrnout (alespoň rámcově) klinické a biochemické nálezy u popsanych pacientů, které by mohly být vodítkem k indikaci pro vyšetření syntézy *de novo* ve specializované laboratoři ?