



Oponentský posudek disertační práce Mgr. Alexandry Muravské

„Proteiny v těhotenství – molekulárně biologická a biochemická analýza“

Předložená disertační práce má 96 stran s četnými tabulkami, grafy a obrázky, autorka v práci cituje 144 recentních publikací. V příloze jsou uvedeny 2 práce in extenso, které byly publikovány v časopisech s impakt faktorem (Folia Biologica, Clinical Biochemistry). Práce byla vypracována na Ústavu klinické biochemie a laboratorní diagnostiky 1. lékařské fakulty UK pod vedením prof. MUDr. Marty Kalousové, Ph.D.

Disertační práce Mgr. Alexandry Lucie Vojtové je členěna tradičně. V úvodu na 20 stranách autorka zpracovala základní informace o biochemii a molekulární biologii proteinů PAPP-A a P/GF, a dále se věnovala přehledu laboratorní diagnostiky čtyř základních patologických stavů v těhotenství.

Cílem práce Mgr. Muravské bylo a) zavedení metody pro stanovení jednobodových polymorfismů v genu PAPP-A, b) studium jednobodových polymorfismů u gravidních s patologickým těhotenstvím, c) stanovení PAPP-A a P/GF u gravidních s patologickým těhotenstvím a vyhodnocení výsledků porovnáním s kontrolními skupinami, d) zavedení metody dvourozměrné elektroforézy proteinů plodové vody.

Kapitola Materiál a metody je zpracována detailně na 27 stranách textu přehlednou formou. Jsou popsány 4 základní soubory: 165 gravidních žen s patologickým těhotenstvím, 114 gravidních žen s fyziologickým těhotenstvím, soubor 48 zdravých netěhotných žen, 13 vzorků plodové vody nejasného italského původu. U prvního souboru jsou uvedeny také podrobné klinické údaje. V kapitole

se autorka věnuje popisu izolace DNA, přípravy primerů a PCR, elektroforéze PCR produktů a jejich sekvenaci. Samostatná kapitola je věnována zavedení metody dvourozměrné elektroforézy proteinů v plodové vodě (izoelektrická fokusace, SDS-PAGE) a popisu vyhodnocovacích a statistických počítačových programů. Použité statistické metody jsou správné.

Stěžejními částmi práce jsou výsledky (14 stran) a diskuse (7 stran), v kterých autorka kriticky analyzuje zjištěné a naměřené výsledky v jednotlivých souborech pacientů. Výsledky jsou také vhodně zpracovány do četných tabulek a barevných obrázků. Za velmi zdařilou kapitolu považuji diskusi, kde autorka kriticky hodnotí dosažené výsledky a diskutuje je s ohledem na jiné publikované práce. V kapitole Závěry autorka jasně a přehledně formuluje dosažené výsledky, z kterých vyplývá, že cíle práce byly splněny.

Autorka zavedla metody stanovení 10 polymorfismů v genu PAPP-A založené na přímém sekvenování genomické DNA. Prokázala přítomnost polymorfismů v exonu 2 a v intronu 6, u pacientek s preeklampsií prokázala signifikantně vyšší výskyt genotypu TT v exonu 2. Mgr. Muravská v disertační práci dále analyzovala výsledky stanovení PAPP-A a P/GF s ohledem na patologické stavy v těhotenství a provedla statistickou korelační analýzu, z které vyplynulo několik zajímavých závěrů, které jsou shrnuty na str. 81 a které dosud nebyly publikovány.

Formální připomínky: chybné psaní % v převážné části textu (% jako substantivum vs. adjektivum), chybné psaní desetinné tečky místo čárky v převážné části textu, neúplný seznam zkratk (např. rpm), chybné psaní jednotek SI (např. sek a sec), po stránce stylistické autorka hojně chybně používá času přítomného místo minulého.

Závěrem lze konstatovat, že práce Mgr. Alexandry Muravské se zabývá velmi aktuální problematikou aplikovaného výzkumu se vztahem ke klinické medicíně. Práce splňuje požadavky disertační práce a přináší celou řadu nových poznatků, které byly publikovány v impaktovaných časopisech. Mgr. Muravská prokázala schopnost samostatné vědecké práce.

Otázka k obhajobě: Jak přesně byly velké produkty PCR pro jednotlivé polymorfismy, kdy byl použit 50 bp a kdy 100 bp standard a jaká byla kontrola amplifikační reakce?

Dle výše uvedených skutečností doporučuji, aby byl Mgr. Muravské na základě úspěšné obhajoby disertační doktorské práce udělen titul Ph.D.



Prof. MUDr. Richard Průša, CSc.
přednosta Ústavu klinické biochemie a patobiochemie UK 2. LF a FN Motol

V Praze, 20.2.2012