



KATEDRA BIOCHEMIE

Univerzita Karlova v Praze, Přírodovědecká fakulta
Hlavova 2030
CZ-128 40 Praha 2

Oponentský posudek disertační práce Mgr. Niny ONRUŠKOVÉ „Studium dědičných poruch glykosylace na biochemické a molekulární úrovni“

Disertační práce Mgr. Niny Ondruškové se zabývá velmi významnou vědeckou problematikou. Jedná se o studium vzácných metabolických onemocnění, které jsou způsobené genetickými změnami vedoucími k poruchám procesů glykosylace. Konkrétně enzymově katalyzované vazbě cukerných struktur na proteiny a lipidy. Tato onemocnění nyní představují rychle rostoucí skupinu dědičných chorob, které vyžadují včasnou diagnostiku. Její technické zvládnutí je však velmi náročné. Zejména vzhledem k nízké specifitě a také variabilitě klinických projevů u jednotlivých pacientů. Diagnostické přístupy tedy vyžadují nejmodernější biochemické a genetické analýsy. Cílem disertační práce Niny Ondruškové bylo proto zavedení a optimalisace takových metod. Ty pak byly využity pro „screening“ pacientů s klinickým podezřením na uvedené dědičné poruchy glykosylace. Cílem bylo rovněž stanovení genetické diagnózy u pacientů již trpících těmito onemocněními a studium pathobiochemických procesů na buněčné úrovni. Dále pak i pro analýsu poruch glykosylace u pacientů s jinými typy onemocnění. Specifické glykoproteiny byly analysovány za použití kombinací metod elektroforetických, kombinovaných s imunodetekcí, molekulárně-genetická podstata onemocnění pak byla sledována za využití sekvenování a restriční analýsy. Použita byla i mikroskopie s imunofluorescencí a imunocytometrií, která vedla k charakterizaci změn na buněčné úrovni. Všechny tyto metody, spolu metodami hmotnostní spektroskopie (prováděné ve spolupracujících zahraničních laboratořích) pak vedly k získání unikátních poznatků, např. rozšíření spektra známých fenotypů a genotypů studovaných onemocnění. Z výsledků práce jednoznačně vyplývá, že v průběhu vypracovávání disertační práce byla vyvinuta a zavedena široká paleta metod, které jsou vhodné pro sledování dědičných poruch glykosylace za normálních a patologických stavů lidských jedinců, a mohou tak přispět k vysvětlení molekulárních mechanismů těchto chorob. Z tohoto hlediska hodnotím předkládanou disertační práci za vysoce významnou studii, esenciální pro rozvoj diagnostiky a léčení chorob resultujících z dědičných poruch glykosylace.

Z práce je patrné, že disertantka je kvalitní pracovníci, která se může uplatnit v řadě laboratoří biochemického a biomedicálního výzkumu. Z práce jasně vyplývá, že musela zvládnout širokou škálu metodik esenciálních pro biomedicínký výzkum. Kladně cením právě komplexní přístup k řešení studované problematiky

Výsledky disertační práce Niny Ondruškové plně odpovídají vytčeným cílům a, jak jsem již zmínila, jsou originální v řadě hledisek. O tom svědčí i skutečnost jejich publikace v renomovaných vědeckých časopisech. Hodnocení práce mě usnadnila právě tato skutečnost; výsledky již byly publikovány ve formě šesti publikací ve vědeckých časopisech s kvalitním impaktovým faktorem (např. Cell Metab., IF 16.747, Brain, IF 10.226, Inherit. Metab. Dis. IF 3.808, Mol. Genet. Metab. IF 2.834 a dalších). Další práce byla k publikaci zaslána. Výsledky disertace tedy prošly náročným recenzním řízením v těchto časopisech. Tato skutečnost také

dokumentuje vysokou vědeckou kvalitu disertační práce. Na dvou pracích a na zaslaném rukopisu publikace je kolegyně Ondrušková prvou autorkou. To ukazuje i její vysoký podíl na uvedených publikacích. Výsledky práce disertantky proto hodnotím velice vysoko.

Disertační práce Niny Ondruškové je jak po stránce formální tak i obsahové velmi kvalitně vypravena. Je psána způsobem, který považuji za vhodný pro doktorské disertační práce, kde většina výsledků již byla publikována. Disertační práce je koncipována, po úvodní teoretické části a popisem metod, které nebyly součástí publikovaných prací, jako komentář k publikovaným pracím. Zakończena je pak závěry práce. Je psána kvalitní angličtinou, srozumitelně a získané výsledky jsou adekvátně diskutovány. Z disertační práce je patrné, že kandidátka je kvalitně připravena pro vědeckou práci ve studované oblasti a bude, dle mého názoru, platným členem jakékoliv laboratoře, kde jsou používány metody pro sledování glykosylačních procesů pro biochemické i klinické účely. Z celkového řešení zvolené problematiky je zcela evidentní, že nejen kandidátka, Mgr. Nina Ondrušková, ale i školící pracoviště, kterého je členkou, je třeba z hlediska kvality vědecké práce hodnotit vysoko.


K práci mám následující dotazy, které předkládám především jako podklad pro diskusi:

- 1) Na obrázku 3 jsou uvedeny základní (klasické) funkce glykoproteinů. Znáte ještě další (nové) funkce těchto modifikovaných proteinových struktur?
- 2) Mohla byste vysvětlit potenciální mechanismus tvorby reaktivních forem kyslíku (ROS) ve fibroblastických buňkách Vámi studované skupiny pacientů?

Závěr:

Disertační práce Mgr. Niny Ondruškové je kvalitní vědeckou prací. Dle mého názoru práce splňuje požadavky kladené na práce obdobného typu. Přináší původní vědecké výsledky, které již také byly publikovány. Proto ji doporučuji k přijetí k obhajobě. Doporučuji rovněž, aby byl na základě úspěšné obhajoby předložené práce Mgr. Nině Ondruškové udělen, dle § 47 Zákona o vysokých školách č. 111/98 Sb., akademický titul doktor ve zkratce **Ph.D.** v oboru **Biochemie a pathobiochemie.**

V Praze, 23. 5. 2015


Prof. RNDr. Marie Stiborova, DrSc.
katedra biochemie, Přírodovědecká fakulta UK v Praze