

Posudek na disertační práci Mgr. Gabriely Rýdlové

Biomarkery ozáření v krevní plasmě leukemických pacientů

Disertační práce **Mgr. Rýdlové, roz. Kultové** byla vypracována v doktorském studijním programu Aplikované biologie a ekologie pod vedením RNDr. Aleny Myslivcové Fučíkové, Ph.D. a pplk. gšt doc. PharmDr. Aleše Tichého, Ph.D. jakožto odborného konzultanta.

Práce pojednává o analýze proteinových biomarkerů v krvi ozářovaných pacientů a animálního modelu. Retrospektivního určení dávky na základě biodozimetrických parametrů zaujímá v současné vědě významnou pozici, jejíž aktuálnost a relevanci podtrhuje též současná geopolitická situace.

Po formální stránce má práce víceméně tradiční strukturu. Je napsána jako odpovídající odborný text s příslušným členěním. Celkový rozsah práce je 160 stran včetně tabulkových příloh. Ve vlastní práci však bývá zvykem uvést plné znění vlastních publikací přímo souvisejících s tématem disertace formou příloh (z roku 2024 a dvou přehledových článků z roku 2020). V seznamu citované literatury je více než 400 položek, což je nadstandardní. Z celkového pohledu pak oceňuji relativní stránkovou proporcionalitu mezi částí teoretickou a metodologickou (zde teoretická část a praktická část) a částí výsledkovou, která je zároveň spojena s diskusí.

Teoretická část popisuje ionizující záření a možné biomarkery pro sledování obdržené kumulativní dávky. Specifická připomínka se týká str. 19, kde jaderná havárie ve Fukušimě z roku 2011 je citována prací z roku 1952. Důraz v této části je kladen na proteomiku, která je stěžejním oborem této práce. Přiměřený prostor je pak věnován i jednotlivým proteomickým technikám – zde jmenovitě využití tandemové hmotové spektrometrie a kvantifikace proteinů.

Navazující praktická část reprodukcibilně popisuje techniky a postupy využití až už při izolaci proteinů z krve/plasmy, tak i jejich následné zpracování na tryptické peptidy a analýzu pomocí hmotové spektrometrie. Specifická připomínka se týká str. 44 a dále v textu, kde výrobce Biosan, sídlící v Rize je uveden jako firma litevská.

Výběr vzorků, především těch patientských byl limitován celkovým počtem kanálů isobarického značení (16 pacientů před a po ozáření), jejich rozvržení je však promyšlené.

Ve výsledkové části je pak detailně popisováno srovnávání jednotlivých postupů nabohacení plazmatických proteinů až už formou imunodeplece (MARS Hu-14 kolony a její centrifugační varianta), technikou hexapeptidové knihovny či deplece pomocí ethanolu. Nemalý potenciál této části práce poněkud zaniká ve světle selhání imunodepleční kolony a zcela iracionálně působícího testování imunodeplece založené na lidských proteinech v případě zpracování prasečí plasmy.

Celkově však implementaci optimalizačního kroku nabohacení plasmatických proteinů do již pravděpodobně přejaté metodologie hodnotím v disertační práci a obecně i doktorském studiu jako velmi přínosné a poučné.

Proteiny plazmy pak byly relativně kvantifikovány cestou TMT (Tandem Mass Tag) a proteiny prasečí plasmy s využitím kvantifikace bez nutnosti značení (Label free quantification, LFQ). Počet kvantifikovatelných proteinů odpovídal nastavení srovnatelných experimentů.

Největší sílu této práce spatřuji ve vlastním porovnání jednotlivých kvantifikačních přístupů. Nadto práce kombinuje pacientská pozorování s unikátním animálním modelem. Tento potenciál však není plně rozvinut. Jako slabou stránku designu této práce vidím absenci technik(y) absolutní kvantifikace, která by výše pozorované závěry ověřila. Takováto validace bývá u podobných studií běžná.

Výsledková část je průběžně v práci konfrontována s pozorováními u jiných skupin a je řádně citována, což dokazuje vědeckou vyzrálost textu a schopnost propojit získaná data s odbornou literaturou.

Dotazy k výsledkům a diskusi:

1) *Plánuje se provedení absolutní kvantifikace, na jaké proteiny byste se konkrétně zaměřila? Jaké přístupy by se v takovéto analýze daly využít?*

2) *Jaký vliv může mít primární pacientské onemocnění na profil plasmatických proteinů?*

Z předkládaného textu jednoznačně vyplývá zvládnutí práce s odbornou literaturou. Je zde rovněž patrná výrazná náročnost experimentů ať už po stránce materiální (animální modely a tandemový hmotová spektrometrie), tak po stránce pracnosti provádění experimentů. Nesnadný úkol lze rovněž spatřovat v bioinformatickém zpracování analyzovaných dat s využitím řady sofistikovaných softwarových nástrojů. Takovéto rozborů lze považovat za průkaz překročení minimálních požadavků standardně kladených na disertační práce v oblasti lékařské chemie a biochemie. Signifikance dosažených výsledků je pak jednoznačně demonstrována uveřejněním v periodiku **Radiation Research s impaktním faktorem 3,4** (2022), pořadí v oboru (biologie) 31/92, 2. kvartil).

Z výše uvedených důvodů proto disertační práci **doporučuji** k obhajobě před odbornou komisí.

V Praze dne 17. května 2024


pplk. PharmDr. Jiří Dresler, Ph.D.