



UNIVERZITA KARLOVA
Lékařská fakulta
v Hradci Králové

OPONENTSKÝ POSUDEK NA DISERTAČNÍ PRÁCI

Název disertační práce: Biomarkery ozáření v krevní plasmě leukemických pacientů

Autor disertační práce: Mgr. Gabriela Rydlová

Pracoviště: Přírodovědecká fakulta, Univerzita Hradec Králové

Doktorský studijní program: Aplikovaná biologie a ekologie

Školitel: RNDr. Alena Myslivcová Fučíková, Ph.D.

Oponent: doc. RNDr. Radim Havelek, Ph.D., Ústav lékařské biochemie, Lékařská fakulta v Hradci Králové, Univerzita Karlova

Posudek:

Mgr. Gabriela Rydlová se ve své disertační práci zaměřuje na identifikaci proteomických biomarkerů reakce na ozáření v lidské krevní plazmě získané *in vivo* a na porovnání s biomarkery nalezenými v prasečí plazmě za použití hmotnostní spektrometrie. Tato disertační práce je jedinečná tím, že využívá lidské krevní vzorky získané po *in vivo* ozáření. Experimentálním cílem práce bylo identifikovat a vybrat vhodné proteiny v lidské plazmě jako potenciální biomarkery poškození po expozici ionizujícímu záření (IZ) pomocí kapalinové chromatografie ve spojení s tandemovou hmotnostní spektrometrií (LC-MS/MS). K tomu byl panel biomarkerů z lidské plazmy rozšířen o proteiny získané z prasečí plazmy.

Předložená disertační práce má celkem 160 stran textu včetně příloh, 25 obrázků a 12 tabulek. Formálně má disertační práce tradiční strukturu, která zahrnuje úvodní teoretickou část, praktickou část, kapitulu věnovanou prezentaci výsledků a jejich diskusi, závěrečnou část, sekci věnovanou použité literatuře, přehled souvisejících publikačních aktivit a přílohy. Disertační práce dále zahrnuje abstrakt v českém a anglickém jazyce, klíčová slova a seznam použitých zkratk. Disertační práce doktorandky se opírá o 5 prvoautorských prací (1 Jimp review a 1 Jimp originální článek) k tématu disertační práce a 2 spoluautorské práce v oboru biologie a ekologie. Samotný text disertační práce je založen na rozsáhlém souboru více než 300 relevantně citovaných zdrojů, a to převážně recentní literatury.





UNIVERZITA KARLOVA

Lékařská fakulta v Hradci Králové

V teoretické části úvodu disertační práce autorka popisuje dostupné literární informace o fyzikálních vlastnostech a biologických účincích různých typů ionizujícího záření. Velký prostor je věnován biologickým markerům využitelným k posouzení radiačního poškození a možnostem detekce těchto biomarkerů obsažených v biologickém materiálu metodou LC-MS/MS. Podle zadání disertační práce se teoretický úvod zabývá principy detekce a kvantifikace pomocí kapalinové chromatografie spojené s hmotnostní spektrometrií. Teoretická část je napsána odborně, srozumitelně a bez významných formálních nebo jazykových nedostatků. I když jsou cíle výzkumného záměru uvedeny dílčím způsobem, jednak v úvodu práce a dále shrnuty v jejím závěru, experimentální cíle jsou formulovány jasně a odpovídají zaměření práce.

Vědecky se předložená disertační práce zabývá velmi aktuální problematikou hledání vhodných biodozimetrických markerů pro odhad obdržené dávky ionizujícího záření. Prezentovaná práce je unikátní díky použití lidských krevních vzorků plazmy získané od pacientů s leukemií, kteří podstoupili celotělové ozáření v rámci terapie. Díky proteomické analýze těchto vzorků spolu s porovnávacími vzorky prasečí plazmy pomocí LC-MS/MS byly získány výsledky identifikující nové kandidátní proteinové markery, které mohou být v budoucnu využity v biodozimetrii.

Význam dosažených výsledků je zdůrazněn prostřednictvím původní experimentální práce, ve které je doktorandka prvním autorem a která byla publikována v mezinárodním časopise s impaktním faktorem 3,4. Dále je doktorandka prvním autorem jednoho přehledového článku v časopisu s impaktním faktorem 2,6, což dále dokumentuje výbornou vědeckou orientaci ve zkoumané problematice.

K práci mám tyto připomínky: Z formálního hlediska má disertační práce pouze drobné nedostatky v typografickém zpracování textu. Pro lepší orientaci v textu by bylo užitečné přidat seznam obrázků a tabulek. Orientaci ve výsledcích komplikuje skutečnost, že některé tabulky z 3. části (tab. 3.1; 3.2; 3.9 a 3.13) jsou umístěny přímo v příslušných částech textu. Ostatní tabulky z 3. části jsou umístěny v příloze, avšak tato skutečnost není nijak zřetelně v textu označena. Obrázek označený jako obr. 3.14 má spíše charakter tabulky. Začlenění do





UNIVERZITA KARLOVA
Lékařská fakulta
v Hradci Králové

textu disertační práce ve formě tabulky by výrazně zlepšilo čitelnost a rozlišení v rámci textu, protože ve formě obrázku jsou data těžko čitelná.

K autorce mám následující dotazy: 1) Na podkladě výsledků experimentální práce jste vytypovala pro účely biodozimetrie 20 kandidátních biomarkerů z lidské plazmy a 14 kandidátních biomarkerů z prasečí plazmy. Zkoušela jste ověřit a konfirmovat změny v plazmatických hladinách některého z těchto biomarkerů jinou metodou než LC-MS/MS? Některé proteiny představují celkem dobře charakterizované biochemické, resp. imunologické markery, pro které jsou vyvinuté robustní analytické metody. Jako příklad lze uvést C reaktivní protein. Mohl by se některý z těchto biomarkerů společně se současnou metodou jeho stanovení přímo uplatnit v rámci odhadu obdržené dávky ionizujícího záření? Nebo předpokládáte, že současné klinické metody (založené na imunochemických, spektrofotometrických a jiných technikách) jsou příliš málo citlivé? 2) Pro depleci abundančních proteinů ve vzorcích lidské plazmy jste využila jednorázových centrifugačních kolonek High-Select™ Top14 Abundant Protein Depletion Resin. Naopak pro depleci abundančních proteinů ve vzorcích prasečí plazmy jste zvolila ethanol. Je možné, že tento rozdílný přístup k ošetření krevní plazmy způsobil nižší záchyt kandidátních biomarkerů v ozářených vzorcích prasečí plazmy? Mohl zvolený typ deplece nějakým významným způsobem vést k rozdílům mezi identifikovanými biomarkery v lidské a prasečí plazmě?

Závěrem konstatuji, že disertační práce Mgr. Gabriely Rydlové s názvem "Biomarkery ozáření v krevní plasmě leukemických pacientů" splňuje kritéria stanovená pro disertační práci. Výsledky této práce byly zveřejněny v prestižních odborných časopisech a kandidátka prokázala schopnost provádět nezávislý vědecký výzkum. **Na základě uvedeného doporučuji obhájit disertační práci a udělit titul Ph.D.**

V Hradci Králové dne 17. května 2024


doc. RNDr. Radim Havelek, Ph.D.

