

## **Abstrakt**

Proteomika je bouřlivě se rozvíjející obor, který nachází uplatnění v mnoha oblastech medicíny, včetně stomatologie. Přesto proteomická charakterizace kostních tkání ve stomatochirurgii není stále běžně využívána. Hlavní příčinou je značná komplikovanost používaných analytických přístupů, která vyplývá z nerozpustného charakteru kostních tkání. Cílem této práce bylo vyvinout a aplikovat přímočarou metodiku, která by mohla vést k rutinnímu využití proteomiky i v této oblasti.

Nejprve byla s využitím prasečích čelistních kostí jako modelových vzorků vyvinuta technika umožňující identifikovat až stovky proteinů díky jejich štěpení trypsinem přímo v kostních tkáních („in-bone digestion“) následovaného analýzou pomocí tandemové hmotnostní spektrometrie s předřazenou kapalinovou chromatografií (LC-MS/MS). Tato technika byla následně aplikována na analýzu odoperovaných tkání lidských maxilárních a mandibulárních kostních tkání. Jak ve vzorcích maxilárních, tak mandibulárních kostí, bylo možné technikou přímého štěpení identifikovat značné množství proteinů. Navíc matematická analýza získaných dat umožnila též rozlišit mezi tkáněmi postiženými zánětem a zdravými tkáněmi. Přístup založený na přímém štěpení byl následně úspěšně rozšířen též na analýzu *in vitro* modelů lidských kostních tkání. Přímé štěpení následované analýzou uvolněných peptidových fragmentů pomocí LC-MS/MS a následná matematická analýza získaných dat umožnila nejen rozlišit vzorky modelů s indukovanými patologickými stavy od kontrolních, ale bylo možné i vzájemné rozlišení dvou různých patologických stavů. V rámci řešení disertační práce byla také otestována možnost využít po technice založené na přímém štěpení v kostních tkáních („in-bone digestion“) i jinou koncevku než LC-MS/MS, konkrétně kapilární elektroforézu s detekcí v ultrafialové oblasti (CE-UV). Po vyhodnocení získaných CE-UV profilů matematickou analýzou bylo možné odlišit vzorky kostní tkáně postižené zánětem od tkáně zdravé.

Využití výše zmíněných netradičních a velmi přímočarých metodických přístupů umožňuje vnést do oblasti stomatochirurgie rutinní vhled na molekulární úrovni. Tak by například mělo být možné sledovat, jaké jsou proteomické reflexe určitých patologických stavů, což by mělo napomoci porozumět mechanismu jejich vzniku i volbě vhodné léčby. Proteomické analýzy odoperovaných čelistních kostí by rovněž mohly sloužit jako vhodný doplněk, případně i alternativa k jejich tradičnímu histologickému hodnocení.