



RECAM

Regional Centre
for Applied Molecular
Oncology



EVROPSKÁ UNIE
EVROPSKÝ FOND PRO REGIONÁLNÍ ROZVOJ
INVESTICE DO VAŠÍ BUDOUCNOSTI



Oponentský posudek dizertační práce

Univerzita obrany, Fakulta vojenského zdravotnictví

Doktorský studijní program: Infekční biologie

Uchazeč: Mgr. Alena Fučíková

Pracoviště: Ústav molekulární patologie

Název dizertační práce: Využití proteomické analýzy pro identifikaci potenciálních biomarkerů u onemocnění kardiovaskulárního systému

Školitel: PharmDr. Juraj Lenčo, Ph.D.

Oponent: prof. Ing. Lenka Hernychová, Ph.D.

Pracoviště: Regionální centrum aplikované molekulární onkologie, Masarykův onkologický ústav, Brno

Hlavním cílem dizertační práce Mgr. Aleny Fučíkové byl vývoj a optimalizace různých typů proteomických metod zaměřených na kvantifikaci vybraných markerů hypertrofické kardiomyopatie. Toto onemocnění je způsobeno souborem geneticky podmíněných poruch a projevuje se širokou škálou individuálních příznaků. I přes vysokou prevalenci výskytu onemocnění v populaci a častým výskytem náhlého úmrtí, není diagnostika této choroby jednoduchá. Studentka tedy řešila velmi aktuální téma s cílem kvantifikovat vybrané proteiny přítomné v biologickém materiálu (plazmě) v nízkých koncentracích. Detekce těchto proteinů optimalizovanou hmotnostně-spektrometrickou metodou by pak umožnila odhalit onemocnění již v raných stádiích. Dalším kladem předkládané práce je propojení základního výzkumu s klinickou praxí ve formě úzké spolupráce s Fakultní nemocnicí v Hradci Králové spojenou s analýzou vzorků získaných od pacientů s obstrukční hypertrofickou kardiomyopatií.

K řešení zadaných cílů studentka využila moderní technologické postupy a nejnovější poznatky v oblasti proteomických analýz, se zaměřením na cílenou proteomiku. Navíc měla možnost během svého studia načerpat zkušenosti na zahraničním pracovišti (Institut molekulární systémové biologie v Curychu, Švýcarsko) a pracovat úkolech



RECAM

Regional Centre
for Applied Molecular
Oncology



EVROPSKÁ UNIE
EVROPSKÝ FOND PRO REGIONÁLNÍ ROZVOJ
INVESTICE DO VAŠÍ BUDOUCNOSTI



spojených s řešením své dizertační práce. Dále je třeba uvést, že Mgr. Alena Fučíková je jednou z prvních, která zavedla SRM metodu v České republice.

Předložená dizertační práce je členěna do sedmi hlavních kapitol, v posudku se však zmíním jen o vybraných kapitolách. V úvodu jsou shrnuty poznatky o hypertrofické kardiomyopatii, proteomických metodách využívaných v klinické diagnostice, v experimentální části jsou popsány vzorky a jejich příprava pro analýzu na hmotnostních spektrometrech a na konec jsou uvedeny analýzy iTRAQ a SRM, kde je mimo jiné popsána optimalizace a validace SID-SRM-MS metody. Výsledky pak dokládají identifikované a kvantifikované proteiny plazmy (studie iTRAQ) a sekvence peptidů vybraných proteinů kvantifikovaných SRM metodou. Na závěr své práce pak sama autorka uvádí, že problematika cílené kvantifikace proteinů souvisejících s hypertrofickou kardiomyopatií není stále zcela vyřešena, a proto je třeba ji dále rozvíjet, aplikovat na větší počet pacientů a hledat způsoby interpretace získaných výsledků.

Práce je psaná pečlivě, srozumitelně a čtivě. V textu se nevyskytují žádné překlepy. Obrázky a tabulky vhodně doplňují popisovaná témata, metody a výsledky. Drobné výtky mám ke zkratkám, které v textu nejsou rozepsané (např. NYHA-str.70, FASP-str.78, CHCA-str.79). Dále u některých obrázků (např. 2.10 až 2.14) není v legendě uvedeno, zda byly převzaty nebo upraveny s připojením zdroje, anebo vytvořeny přímo autorkou dizertační práce. V grafech na obrázku 5.7 na str. 114 chybí legenda (není znám popis jednotlivých vzorků a značek). Nenašla jsem metody pro měření koncentrace proteinů či peptidů ve vzorcích.

Dotazy oponenta k obhajobě disertační práce

V práci popisujete metodu kvantifikace (iTRAQ) měřenou v módu DDA (Data Dependent Acquisition) a metody SRM cílené kvantifikace. Myslíte, že by mohly být vzorky plazmy (popisované ve vaší práci) měřeny v DIA (Data Independent Acquisition) módu a jakými metodami? Mohla byste popsat princip obou módů (DDA a DIA) a zamyslet se nad tím, jaké výsledky by se mohly získat u DIA metod? Má smysl DIA metody používat pro hledání a verifikaci biomarkerů?



RECAM (O)

Regional Centre
for Applied Molecular
Oncology



EVROPSKÁ UNIE
EVROPSKÝ FOND PRO REGIONÁLNÍ ROZVOJ
INVESTICE DO VAŠÍ BUDOUCNOSTI



Závěr

Studentka získala nejen značný přehled o současných proteomických metodách, ale také neocenitelné praktické zkušenosti při přípravě biologických vzorků, jejich analýze na hmotnostních spektrometrech a interpretace dat. Navíc originální výsledky uvedené v dizertační práci byly a jistě ještě budou publikovány a prezentovány na vědeckých konferencích. Z uvedených výsledků vyplývá velmi mnoho odvedené práce, časová i finanční náročnost metod.

Závěrem lze shrnout, že všechny cíle vytyčené v dizertační práci byly splněny. Dizertační práce obsahuje předepsané náležitosti a **splňuje** podmínky uvedené v paragrafu 47 odstavce 4 zákona. Mgr. Alena Fučíková prokázala způsobilost k samostatné vědecké práci a získala nové originální výsledky. Práci **doporučuji** k obhajobě a hodnotím ji jako **výbornou**.

V Brně 22. 8. 2013

prof. Ing. Lenka Hernychová, Ph.D.