



UNIVERZITA KARLOVA  
Lékařská fakulta  
v Hradci Králové

**Oponentský posudek na dizertační práci Mgr. Petry Zedníkové:**

***Identifikace nových potenciálních biomarkerů předčasného porodu v plodové vodě***

Predikce předčasného porodu je medicínsky i společensky významné téma. S rozvojem proteomiky jsou k dispozici metody, které poskytují potenciál pro hledání vhodných biomarkerů. Téma práce zaměřené na biomarkery v plodové vodě a metodický postup řešení s využitím LC-MS/MS analýzy je tak vysoce aktuální.

Práce má tradiční uspořádání. V teoretickém úvodu poukazuje autorka na omezené možnosti predikce předčasného porodu včetně problematiky využití biomarkerů. Autorka dále ve své práci poskytuje přehled proteomických metod, věnuje se separačním technikám a rozebírá metodu hmotnostní spektrometrie v jejích jednotlivých krocích. Upozorňuje současně na výhody a nevýhody metod používaných při separaci, identifikaci a kvantifikaci proteinů s ohledem na druh testovaných vzorků (plazma, buňky apod.), rozlišovací schopnost či aktuálnost metody. Experimentální část práce charakterizuje soubor pacientek, od nichž byly získávány vzorky plodové vody, věnuje se postupům při zpracování vzorků, analýze, identifikaci a kvantifikaci získaných proteinů. Výsledky jsou srozumitelně okomentovány.

Je třeba vyzdvihnout, že práce reaguje na současné potřeby klinické praxe. Stanovení biomarkerů z plodové vody mj. přináší komplikaci v množství přítomných proteinů a jejich rozdílné koncentraci. Autorka se úspěšně vypořádala se snížením komplexity vzorku za použití imunodeplece a bazické frakcionace, pro vyšší efektivitu enzymatického štěpení ověřila použití dvou enzymů. Pro kvantifikaci byla zvolena metoda iTRAQ 4-plex značení. Oceňuji široký záběr práce, autorka zvládla nejen optimalizovat metody pro přípravu vzorků, ale i jejich analýzu za použití metody LC-MS/MS, stejně jako úskalí identifikace a kvantifikace získaných dat. Spektrum použitých metod tak převyšuje samotné laboratorní analytické nástroje o sofistikované postupy nezbytné při analýze získaných dat. Výsledkem je úspěšné vytipování potenciálních biomarkerů. Autorka metodické postupy, které ve své práci využila, zdařile komentuje v diskusi, stejně jako význam nalezených biomarkerů s ohledem na klinické podmínky. Vzhledem k tomu, že se jedná o kombinaci vysoce specifického medicínského tématu s použitím rychle se rozvíjejících proteomických metod, není jistě jednoduché výsledky interpretovat, ale autorka se s tímto úkolem vypořádala a prokázala schopnost pracovat s literárními zdroji.

K formální a jazykové stránce mám pouze drobné připomínky:

- Doporučila bych v dizertační práci uvést cíle práce. Z kontextu je sice lze vyčíst, ale zvýšila by se přehlednost.
- V diskusi jsou uvedeny dva grafy, považovala bych za vhodnější je umístit k výsledkům a v diskusi se popř. na ně odvolat.

K práci mám následující dotazy:

- Pozitivní soubor pacientek (s předčasným porodem) je oproti kontrolnímu souboru statisticky starší. Neměly by oba soubory být v tomto parametru srovnatelné nebo je to záměr?





UNIVERZITA KARLOVA  
Lékařská fakulta  
v Hradci Králové

- V práci uvádíte, že ženy v kontrolní skupině porodily po 37. týdnu. Nemůže mít na výsledky vliv i to, ve kterém týdnu tyto ženy porodily (např. 38 + 0 vs 41 + 2)?
- Jak se díváte na možnost rutinního využití Vámi zvolených metod pro účely měření biomarkerů předčasného porodu?

Závěrem je třeba konstatovat, že autorka ve své dizertační práci prokázala schopnost samostatně vědecky pracovat, doporučuji proto přijetí dizertační práce k obhajobě.

doc. MUDr. Halka Lotková, Ph.D.  
Univerzita Karlova  
Lékařská fakulta v Hradci Králové  
Ústav fyziologie  
Šimkova 870  
500 38 Hradec Králové

V Hradci Králové 29. 10. 2020

