

Oponentský posudek

na práci Ireny Bartoňové

„Dynamika sérových antiproteáz při (pro)enzymoterapii nádorových onemocnění“

Teoretická část je rozdělena na dvě oblasti, biochemickou a analytickou. V biochemické části jsou přehledně vysvětleny základní pojmy a procesy, s kterými se setkáváme v praktické části práce srozumitelným způsobem a v dostačujícím rozsahu.

V další části, úvodu do hmotnostní spektroskopie, je stručně popsán obecný princip hmotnostní spektrometrie. Praktické je rozdělení přístroje na část separační, ionizační, analyzátor a detektor. Pak je možné diskutovat různé varianty těchto komponent pro rozdílný způsob použití. U ionizační indukční plasmy, zřejmě vlivem informačního šumu nebo překlepu, je správně název metody v angličtině – Inductively Coupled Plasma, ale nesprávně zkratka ICD, která je odvozena ze začátečních písmen anglického názvu, tedy ICP.

Tato část končí popisem sestavy zařízení, na kterém byly provedeny analýzy vzorků praktické části práce. Je zřejmé, že zvolený hmotnostní chromatograf je pro tento typ analýz určen. Ke zpracování teoretické části není připomínek.

V praktické části bylo nutným krokem pro sledování dynamiky antiproteáz zvládnutí stanovení α -2 makroglobulinu, α -1 antitrypsinu a contrapsinu v séru na MS. To bylo jedním z cílů této práce. Podařilo se vypracovat metodiku přípravy vzorku krevního séra pro zpracování na MS a optimalizovat koncentraci analytu ve vzorku. Dále byl upraven protokol měření tak, aby se optimalizovala doba trvání analýzy a počet identifikovaných proteinů. Výsledkem bylo nejen relativní srovnání obsahu výše uvedených analytů ve vzorcích, ale s použitím vnitřního standardu a korekcí na albumin, i jejich absolutní kvantifikace. Výsledky byly ověřeny srovnáním s publikovanými hodnotami. Po dosažení tohoto cíle mohlo být přistoupeno k hlavnímu cíli práce, sledování dynamiky antiproteáz při (pro)enzymoterapii nádorových onemocnění u jednotlivých skupin léčených myší.

K tomuto účelu byl využit jiný experiment, při kterém byla účinnost terapie hodnocena mimo jiné i měřením velikosti nádorů. U stejných skupin myší byl stanoven obsah α -2 makroglobulinu, α -1 antitrypsinu a contrapsinu v séru a jejich obsah, v absolutních hodnotách, vyhodnocen v závislosti na způsobu a účinnosti terapie. To bylo dalším cílem této práce. Citlivost metody umožnila u vzorků provést i kvalitativní analýzu výskytu sérových proteinů. Z jejich výskytu však nebylo možné odvodit žádné výrazné odlišnosti mezi jednotlivými vzorky.

Hlavním přínosem práce je zavedení metodiky kvantitativního stanovení výše zmíněných proteázových inhibitorů v myším séru. Díky tomu se podařilo zjistit, že hladina α 2M během (pro)enzymoterapie mírně stoupá na rozdíl od α 1AT a CONT, což bylo hlavním cílem této práce.

Na závěr bych položil dvě otázky:

1. Při zpracování výsledků bylo použito korekce na albumin. Měla volba albuminu nějaké výhody proti korekci na jiný stabilní analyt?
2. Byla provedena i kvalitativní analýza výskytu sérových proteinů. Bylo by možné upravit metodiku analýz na kvantifikaci některých vybraných proteinů, které byly identifikovány v každém vzorku a měla by tato kvantifikace nějaký smysl?

Celkově hodnotím práci jako výbornou, bezesbytku bylo splněno zadání této práce a navíc bylo využito citlivosti analytické metody ke kvalitativnímu stanovení sérových proteinů, které se vyskytovaly v krevním séru nad limitem detekce. Proto pro ni navrhuji klasifikační stupeň 1.

Ing. Jiří Mládek
AREKO spol. s r.o.
Dobronická 635
148 25 Praha 4

V Praze dne 25.5. 2010


Ing. Jiří Mládek