

Hmotnostní spektrometrie pro monitorování a studium chronické myeloidní leukémie

Habilitační práce byla předložena na Přírodovědecké fakultě Univerzity Palackého pro obhajobu v oboru Analytická chemie. Spis se skládá ze dvou částí. První část je teoretickým úvodem o problematice nemoci chronická myeloidní leukémie (CML), následuje přehledová kapitola o hmotnostní spektrometrii aplikované v klinických studiích se zaměřením zejména na analýzu metabolitů, což je možné považovat za jakousi metodickou kapitolu. Obojí je v souladu se zaměřením vědecké činnosti autora, kterou tato habilitační práce představuje. Následuje několik kapitol, které jsou shrnutím souvisejícího experimentálního výzkumu s komentáři, tedy jde o výsledkovou část s diskusí. Poté je součástí závěr s charakterizací autorského vědeckého přínosu a popsány jsou i cíle pro navazující výzkum v blízké budoucnosti. Nechybí seznam zkratk a přehled citované literatury. Druhá část habilitační práce je potom souborem příloh, kde jsou *in extenso* vybrané vědecké publikace. Sedm z těchto přílohových publikací vyšlo ve vědeckých časopisech hodnocených impaktovým faktorem, dr. Friedecký je vždy jedním z klíčových autorů, dvakrát je autorem korespondenčním. V této roli vystupuje i na publikaci, která je v habilitační práci ve formě rukopisu. Jak jsem si ověřil, práce se nedávno objevila v časopisu *Therapeutic Drug Monitoring*.

Text první části je psán svižně a věcně, typografických chyb je zanedbatelné minimum. V popisu nemoci CML se z hlediska čtenáře objevují nejdůležitější fakta, tedy příčina vzniku nemoci – translokace chromosomu – a používaná léčiva, která inhibují tyrosinkinasu, jejíž nadměrná aktivita vede k destrukci regulačních mechanismů buněčného dělení lymfocytů. Text o hmotnostní spektrometrii je logický, uvádí moderní instrumentaci této analytické metody, možnost spojení se separačními metodami chromatografickými či elektromigračními a využití v experimentální medicíně a klinické diagnostice. Celé odstavce této pasáže na str. 10-13 však postrádají citování původní zdrojové literatury. Pokračuje se bližším představením diagnostiky dědičných metabolických poruch na základě separace a analýzy metabolitů, monitorováním hladin terapeutik a vitamínů, zmíněna je i diagnostika patogenních mikroorganismů. Výsledková část s diskusí je zahájena kapitolou o monitorování hladiny inhibitorů tyrosinkinasy např. imatinibu, dasatinibu aj. cestou LC-MS a taktéž s přímým nástřikem zředěného vzorku krevní plasmy. Metoda přímého nástřiku byla dále optimalizována pro dasatinib na přístroji umožňujícím vícenásobnou fragmentaci s dosažením výborné citlivosti a vysoké rychlosti měření pro efektivní zpracování sérií vzorků. Inhibitory tyrosinkinasy byly též analyzovány po extrakci na pevné fázi v přímém propojení s hmotnostní spektrometrií. Z mého pohledu nejzajímavější je část o sledování metabolitů imanitibu. V plazmě byly nalezeny desítky produktů biotransformace imanitibu, struktury byly odvozeny měřením s vysokým rozlišením na přístroji Orbitrap Elite.

Dotaz k obr. 4.4: Chápu správně, že např. chromatografický profil c) odkazuje množstvím píků na oxidační modifikace imatinibu v různých pozicích včetně dvojitých oxidací a případných konjugací? Jsou takové biotransformace v literatuře potvrzeny ze studií s čistými enzymy nebo mikrosomální frakcí jaterních buněk i z jiných metod, než z výsledků hmotnostní spektrometrie, např. NMR?

Poslední kapitola týkající se profilování metabolitů léčených pacientů s CML je demonstrací využití pokročilého zpracování dat z měření sérií vzorků identifikujících více než 100 metabolitů v leukocytech a plazmě. Na základě kvantifikování metabolitů z chromatogramů bylo provedeno vyhodnocení. Nalezené rozdíly v metabolitech z diskriminačních analýz jsou diskutovány v kontextu metabolismu, přičemž ve srovnání různě léčených pacientů a kontrol se ukazuje ovlivnění drah biosyntézy nukleotidů nebo sacharidového metabolismu. Diskutována je i zvýšená hladina aminokyselin mimo aspartát v leukocytech u nově diagnostikovaných pacientů versus kontrola.

Dotaz k PCA grafům (obr. 5.2): Jak by autor hodnotil nepřiliš markantní rozdělení skupin pro vzorky plasmy? Dá se říci, že je zde ovlivnění metabolismu ve srovnání s leukocyty opravdu relativně menší nebo se spíše odráží rozdílná podstata analyzované matrice spojená např. se supresí při ionizaci?

Závěr je stručný a výstižný, navazující samostatný text o výhledech do budoucna však mohl být jeho součástí. Seznam citované literatury má 74 položek a je z mojí strany bez připomínek. V seznamu použitých zkratk chybí některé v textu použité položky, např. zkratky názvů metabolitů.

Jako celek má habilitační práce vysokou úroveň a připomínky jsou marginální, neovlivňují tedy moje závěrečné vyjádření a doporučení. Vše se opírá o poctivá originální data, která již nadto byla publikována v relevantních a kvalitních časopisech, kde prošla standardním recenzním řízením. Výsledek svědčí o autorově vědomostním a tvůrčím potenciálu, schopnosti provádět systematickou vědeckou práci, získávat reprodukovatelná data a správně je vyhodnocovat. Z dalších dokumentů vyplývá dlouholetá zkušenost uchazeče s pedagogickou výchovou studentů na vysoké škole, což sice není a nemůže být podkladem pro posouzení předloženého spisu, ale dokresluje to moje přesvědčení o tom, že kandidát je v oboru zcela kompetentní osobou a vlastními zásluhami se dopracoval do odpovídající úrovně pedagoga, který aspiruje na udělení vědeckopedagogického titulu docent podle §71 a 72 Zákona o vysokých školách č. 111/98 Sb. Práci jednoznačně doporučuji k obhajobě.

V Olomouci dne 10. 12. 2016


Prof. Marek ŠEBELA