



University of Hradec Králové
Faculty of Science

Rokitanského 62, 500 03 Hradec Králové

Oponentský posudek disertační práce

Název práce:

Využití moderních analytických metod v klinickém výzkumu

Autor: Mgr. Andrea Vernerová

Školitel: doc. RNDr. Lenka Kujovská Krčmová, Ph.D.

Školící pracoviště: Univerzita Karlova, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové, Katedra analytické chemie

Oponent: doc. RNDr. František Malíř, Ph.D.

Předložená disertační práce Mgr. Andrey Vernerové je zaměřená na vývoj, optimalizaci, validaci a aplikaci chromatografických metod a extrakčních postupů pro stanovení časných biomarkerů aktivace imunitního systému ve slinách a gingivální tekutině u onkologických pacientů a pacientů s parodontálním onemocněním a je komponovaná jako soubor 5 publikací. Dále je v práci zkoumán potenciál využití Clarkova senzoru pro zjištění správné funkce trombocytů pomocí měření mitochondriální respirace a jeho aplikace v klinickém výzkumu.

Práce obsahuje celkem 238 číslovaných stran textu, z toho je 220 literárních zdrojů včetně internetových (ze kterých je 11 údajů z roku 2021 a 1 údaj z roku 2022). Jedná se o přehledný text, vhodně doplněný ilustrativními obrázky a tabulkami. Práce je doplněna celkem 7 přílohami, což jsou kopie publikací, na kterých se doktorandka celkově podílela (nicméně přílohy 6 a 7 bezprostředně s cílem disertační práce nesouvisí). Formální úprava práce vyhovuje požadavkům kladeným na disertační práce.

Cíl práce:

Hlavním cílem byl:

- a) vývoj, optimalizace a validace dvou nových chromatografických metod a metodik pro stanovení biomarkerů aktivace imunitního systému (neopterin, kynurenin a tryptofan) a kyseliny močové ve slinách a gingivální tekutině a jejich aplikace v klinickém výzkumu se zaměřením na jednoduchost, rychlost a aplikovatelnost v rámci velkých sérií vzorků;
- b) zavedení inovativního přístupu měření mitochondriální respirace ve Fakultní nemocnici Hradec Králové, který využívá detekčního mechanismu Clarkova senzoru pro sledování funkčnosti metabolismu trombocytů v lidském organismu.

Teoretická část:

Teoretická část je sepsána a koncipována jasně a přehledně se zaměřením na vybrané biologické matrice (např. sliny a gingivální tekutinu) a způsoby jejich odběru a jednotlivé cílové analyty, jejich klinický význam, využití biologické matrice a jejich úpravu před analýzou. Dále jsou zde diskutovány použité separační metody a metody detekce, následně tato část ukončena statí validace bioanalytických metod.

Praktická část:

Vlastní experimentální práce rozdělená do 2 částí, z nichž první se zabývá vývojem, optimalizací a validací HPLC metod a jejich využitím v aplikovaném výzkumu v klinické praxi (příloha 1-4). V chromatografické části kandidátka komentuje 2 publikované metody a 1 rešeršní práci. Druhá část popisuje stanovení mitochondriální respirace trombocytů pomocí polarografického senzoru kyslíku u zdravých dárců krve s využitím dvou odlišných separačních technik pro izolaci trombocytů.

Vlastní experimentální práce je tvořena komentářem k 5 publikovaným článkům, všechny publikace byly uveřejněny v časopisech s IF – a to v rozmezí od 0,659 do 8,498, AIS v rozsahu 0,112-1,205), z toho Mgr. Andrea Vernerová 4 x byla první autor a 1 x spoluautor. V seznamu publikovaných prací autorky jsou popsány podíly autorky v experimentální práci a lze ocenit její osobní příspěvek k experimentální práci s cílem vyvinout metodiku vhodného odběru a úpravy vzorku, co nejméně invazivního pro pacienta, dále HPLC-DAD-FLD metodu a UHPLC-FLD-MS/MS výše uvedených biomarkerů ve slinách a gingivální tekutině a metodický přístup k vyšetření trombocytů.

Přednosti disertační práce:

Z hlediska metodologického se jedná o aktuální problematiku, protože chromatografické metody jsou stále dominantním nástrojem při analýze komplexních matic, jakými jsou biologické vzorky. Cenným příspěvkem je pak propojení vyvíjených analytických metod s klinickou praxí-a to ve spolupráci s několika klinickými pracovišti FN Hradec Králové, Olomouc a Oroboros Instruments (Innsbruck, Rakousko) a implementace metod do souboru vyšetření Výzkumné laboratoře Ústavu klinické biochemie a diagnostiky FN HK pro potřeby spolupracujících klinických pracovišť. Publikační aktivita doktorandky převyšuje požadavky kladené na disertační práce.

Nedostatky disertační práce:

Nejedná se o nějaký nedostatek, pouze konstatování, že se doktorandka věnovala poměrně odlišným oblastem výzkumu. Práce obsahuje některé překlepy a menší chyby, které však nesnižují její hodnotu, např. na s. 90, druhý řádek zdola- lepší pochopení patofyziologických procesů, dále např. v seznamu použité literatury, cit. 29: KRCMOVA, Lenka Kujovska,; cit. 160: SHARPE, P.T. opakuje se 2 x po sobě: *Volume 18*, aj.

Dotaz na doktorandku: na s. 35 uvádí, že dochází k přeměně kreatininu na kreatin pomocí enzymu kreatininkinázy: mohla by mi doktorandka blíže vysvětlit- uvedenou přeměnu ?!

Závěr: Doktorandka zpracovala přehlednou disertační práci, která jasně dokumentuje výsledky její experimentální práce a po odborné stránce dosáhla všech hlavních cílů a celkově splnila

zadání na školícím pracovišti. Práce má hodnotu jako kvalifikační spis, tak v oblasti analytické chemie i značný vědecký přínos.

Disertační práci Mgr. Vernerové podle platného zákona o vysokých školách proto doporučuji k obhajobě jako jeden z podkladů pro udělení titulu Ph.D.

V Hradci Králové, dne 12.10. 2022

doc. RNDr. František Malíř, Ph.D.