

OPONENTSKÝ POSUDEK – DISERTAČNÍ PRÁCE

Název: **Využití kapalinové chromatografie v analýze biologického materiálu pro klinický výzkum**

Autor: **Mgr. Dorota Turoňová**

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

Oponent: **doc. RNDr. Dagmar Solichová, Ph.D.**

Předložená disertační práce se zabývá využitím vysokoúčinné kapalinové chromatografie v analýze biologického materiálu pro klinický výzkum. Disertační práce vznikla z velké části na základě spolupráce s Fakultní nemocnicí v Hradci Králové, Ústavu klinické biochemie a diagnostiky, kde pracuje výzkumná skupina Chromed, jejíž členkou doktorandka byla. Práce má celkem 197 stran, je členěna na teoretickou část a část s komentáři k vybraným publikovaným pracím doktorandky a její součástí je příloha s kopiemi čtyř přijatých vědeckých prací doktorandky, tří již publikovaných a jedné práce v tisku.

V úvodu v teoretické části práce se autorka zabývá použitím vysokoúčinné kapalinové chromatografie v klinické praxi, popisuje klíčové parametry pro vývoj LC metody a zároveň uvádí i nové směry současné bioanalytické praxe. Samostatná část je věnována problematice odběru a úpravě vzorků z různých biologických matric. Stručně jsou rovněž zmíněny moderní trendy, např. mikroextrakce a úprava vzorku suché kapky krve. Součástí kapitoly o úpravě vzorků je také část věnovaná derivatizaci a zejména jejímu využití v analýze platinových derivátů, která souvisí s jednou z publikovaných prací. Tato teoretická část práce obsahuje 36 stran a je svým rozsahem odpovídající.

Druhou část práce tvoří komentář k vědeckým publikacím doktorandky. Je rozdělen na 4 části. První prezentuje přehledový článek (v prestižním Trends of Analytical Chemistry – TrAC - tj. časopise č. 1 v oboru Analytical Chemistry!) zabývající se použitím mikroextrakce v pipetovacích špičkách v klinické a forenzní toxikologii. Jsou zde diskutovány výhody a nevýhody jednotlivých aplikací s důrazem na jejich praktičnost a možnost uplatnění v praxi. Druhá práce popisuje vývoj HPLC metody pro stanovení platinových léčiv v různých druzích biologických matric s využitím předkolonové derivatizace diethyldithiokarbamátem a jeho vhodnost pro použití v běžné praxi. Pozornost je především věnována výskytu různých matricových efektů a tím i ovlivnění robustnosti metody. Cílem bylo vyvinout jednoduchý, levný a složitou instrumentaci nevyžadující přístup pro použití v rutinní praxi. Třetí a čtvrtý komentář je věnován biomedicínským pracím, které se zabývají potenciálem využití markerů aktivity imunitní odpovědi pro predikci odpovědi organismu postiženého nádorovým onemocněním na léčbu imunoterapií a vývoje onemocnění a pro zvládnutí léčby COVID-19.

V závěru disertační práce autorka stručně shrnuje získané výsledky a nastiňuje konkrétní směry dalšího výzkumu v uvedené oblasti, především v souvislosti s využitím moderních přístupů v úpravě biologických vzorků před HPLC analýzou.

Dále je v disertační práci zařazen seznam citované literatury (celkem 197 literárních odkazů), seznam publikací (celkem 4, z toho 2x jako první autorka), přehled prezentací na konferencích (postery a přednášky), přehled absolvovaných zahraničních stáží (jedna stáž v celkové délce 7 měsíců v rámci Erasmus mobility programu) a rovněž seznam grantových projektů (celkem 6), na jejichž řešení se doktorandka podílela jako členka kolektivu i jako spoluřešitelka grantu. Jako přílohy jsou zařazeny kopie 4 vědeckých článků (3x s plnou citací, 1x v tisku) publikovaných ve velmi kvalitních impaktovaných časopisech. U dvou z nich je Mgr. Turoňová první autorkou (Trends in Analytical Chemistry 2021, 143, 116404 (IF2022: 13,1 (D1) a Journal of Separation Science 2023, doi: 10.1002/jssc.202300392 (v tisku) (IF2022: 3,1 (Q2)). U dalších dvou impaktovaných článků je doktorandka součástí autorského kolektivu.

Disertační práce je zpracována přehledně, s logickým členěním textu, obsahuje bohužel poměrně hodně drobných gramatických chyb a překlepů a nesprávného použití interpunkce (Např. - Str. 15, Seznam zkratk, ř. 1 – mikroextrakce; Str. 19, Úvod, ř. 4. zdola – Kvůli narůstající potřebě zvyšování efektivity laboratorního procesu, dochází i k modernizaci laboratorní instrumentace; Str. 21, Cíl práce, ř. 7. - V kapitole zabývající se úpravou vzorku je také část věnována derivatizaci a její využití v analýze platinových derivátů; Str. 23, Teoretická část, ř. 7. zdola - Vzhledem ekonomické stránce; Str. 23, Teoretická část, poslední řádek - Jednotlivé techniky, které jsou pro účely screeningu používány v rutinních laboratořích je možné mezi sebou porovnat v tabulce; Str. 26, Teoretická část, UHPLC, 1. odstavec ř. 3. - Díky vysokému zpětnému tlaku, který tyto fáze generují bylo nutno zareagovat; Str. 42, Teoretická část, kap. Moč, ř.3. shora – Vzorek této ascitu; Str. 48, Teoretická část, kap. 3.1.1.2. - Použití takových to hybridních technologií; Str. 85, Závěr, kap. 5, poslední řádek - Teoretická část -je shrnuje postavení ;a mnoho dalších), což ale neznehodnocuje její kvalitní obsah.

Na práci oceňuji její originalitu a náročnost, jedná se o poměrně složitou problematiku bioanalýzy. O vysoké kvalitě získaných výsledků svědčí fakt, že nové poznatky byly publikovány ve velmi kvalitních vědeckých časopisech. K dobrému hodnocení práce doktorandky přispívá i to, že se zapojila aktivně do klinického výzkumu ve Fakultní nemocnici Hradec Králové.

K práci mám tyto dotazy:

1. Zda se nově vyvinutá HPLC metoda pro stanovení platiny v různých biologických matricích již uplatnila v klinické praxi, případně i na jiných pracovištích?

2. Jaký je Váš názor na možné využití metody suché kapky v analýze biologického materiálu a jaké jsou Vaše zkušenosti s touto technikou?
3. Je stanovení neopterinu, případně poměru neopterinu a kreatininu možno využít i u jiných než nádorových onemocnění a COVID- 19 jako prediktivní faktor nebo monitorování léčby?

Závěr a doporučení:

Protože práce splňuje veškeré požadavky kladené na disertační práce, doporučuji její přijetí k obhajobě a jako podklad k udělení titulu Ph.D.

V Hradci Králové: 10. 8. 2023

doc. RNDr. Dagmar Solichová, Ph.D.