

## POSUDEK DISERTAČNÍ PRÁCE

**Název:** Hodnocení metabolismu a exkrece endogenních látek a xenobiotik

**Autor:** RNDr. Martin Uher

**Školitel:** doc. Ing. Miloš Hroch, Ph.D.

**Oponent:** Doc. PharmDr. Petra Štěrbová, Ph.D.

---

Disertační práce prezentuje inovativní postup pro přípravu referenčních vzorků pro LC-MS stanovení endogenních látek, kde není možné využít prázdnou biologickou matrici. Tento postup byl vyvinut pro stanovení žlučových kyselin v plazmě a posléze aplikován do analýzy vzorků v rámci klinického i preklinického výzkumu. Úvodní teoretická část je zejména zaměřena na charakterizaci žlučových kyselin a analytické metody jejich stanovení. Jsou zde diskutovány problémy spojené s validací bioanalytické metody při absenci prázdné matrice i způsoby, jak je tento problém konvenčně řešen. Teoretická část je následována shrnutím cílů. Metodická část přehledně popisuje všechny potřebné experimenty. Výsledky jsou spojeny s diskuzí. V rámci experimentální práce jsou nejprve porovnány běžně využívané zástupné matrice a je vybrána ta nejvhodnější pro kvantifikaci žlučových kyselin. Následuje vysvětlení postupu přípravy referenčních vzorků kombinující stanovení endogenních koncentrací a známého přídatku analytů do autentické matrice. Metoda je poté plně validována podle doporučení pro validaci bioanalytických metod. První aplikací metody je stanovení koncentrací a profilu žlučových kyselin v plazmě gravidních žen s cílem odhalit možnou spojitost s nefysiologickým průběhem těhotenství. Dalšími aplikacemi jsou stanovení žlučových kyselin v plazmě potkanů a myši s indukovanou cholestázou s cílem přispět k odhalení mechanismu této patologie. Výsledky experimentální práce jsou shrnuty v závěru.

Práce je sepsána jasně a výstižně a svědčí o dobré orientaci autora ve studované problematice. Z formálního hlediska práce obsahuje malé množství ne zcela vhodných formulací např: detektor lze nasadit..., elektrosprej provozovaný v negativním modu...

Náplň experimentální práce přináší nové poznatky jak to oblasti bioanalýzy endogenních látek, tak prostřednictvím aplikace metody to klinického i preklinického výzkumu. Výsledky práce byly publikovány, případně byly v době odevzdání práce v recenzním řízení, v časopisech s IF (3x). Kromě publikací přímo souvisejících s disertační prací je doktorand autor nebo spoluautor dalších vědeckých článků publikovaných v časopisech s IF. Celkem je 2x první autor a 3x spoluautor publikovaných článků a 1x první autor u článku v recenzním řízení.

K práci mám následující připomínky, dotazy či náměty do diskuze:

- Str. 22, 26: Termíny „dceřiné ionty“ a „rodičovské ionty“ nejsou dle UPAC doporučovány. Podobně pak termín „hmota“ není zcela správný.
- Str. 27: Využívali jste také tzv. „konfirmační přechody“? Bylo to vůbec možné, vzhledem k fragmentačnímu chování analytů?

- Str. 28: Jaký máte názor na obecný jev, který je v bioanalýze v současné době vidět, kdy je vnitřní standard přidávaný do precipitačního činidla, nikoliv přímo do biologické matrice? Koriguje takto přidávaný standard dostatečně variabilitu výtěžnosti analytu při úpravě vzorku?
- Uvádíte, že jedním z hlavních předpokladů pro použití nového postupu přípravy referenčních vzorků je absence matricových efektů. Myslíte, že by byl postup použitelný i v případě, že nebude možné využít jako vnitřní standard izotopicky značený analog, který tyto jevy obvykle poměrně dobře koriguje?
- Ovlivní případná nižší výtěžnost extrakce analytů z plasmy stanovení endogenní koncentrací, při použití 50% metanolu jako zástupné matrice pro přípravu kalibračních vzorků?
- Bylo by zajímavé vidět, jaký je rozdíl mezi koncentrací žlučových kyselin stanovenou z reálných vzorků s využitím 50% methanolu jako zástupné matrice a nově vyvinutého postupu.
- V rámci disertační práce byly analyzovány vzorky jak z klinické studie, tak z preklinických experimentů s malými zvířaty. Byla práce se vzorkem od malých zvířat nějak specifická v porovnání se vzorky z klinické studie?

Závěrem lze shrnout, že RNDr. Martin Uher prokázal schopnost samostatné vědecké práce. Výsledky, které získal v průběhu doktorského studia, jsou nové a originální. Jejich kvalitu mimo jiné dokládají publikace v časopisech s IF.

**Disertační práci Mgr. Uhera proto doporučuji k obhajobě jako jeden z podkladů pro udělení titulu Ph.D.**

V Hradci Králové: 15.5. 2023

Doc. PharmDr. Petra Štěřbová, Ph.D.

Katedra farmaceutické chemie a  
farmaceutické analýzy  
Farmaceutická fakulta UK v Hradci  
Králové