UNIVERZITA OBRANY
Fakulta vojenského zdravotnictví

POSUDEK ŠKOLITELE STUDENTA K OBHAJOBĚ DISERTAČNÍ PRÁCE

Student: Mgr. Nela **Váňová**
Školitel: plk. doc. **Pharm**Dr. Daniel Jun, Ph.D.
Školitel-specialista: -
Studijní program: **Toxi**kologie
Forma studia: kom**bino**vaná
Ročník: 6:

Název disertační práce: Sledování biomarkerů oxidačního stresu HPLC metodami

Mgr. Nela Váňová vypracovala svou disertační práci na pracovišti Katedry toxikologie a vojenské farmacie Fakulty vojenského zdravotnictví Univerzity obrany.

Dizertační práce svým obsahem odpovídá schválenému tématu, kterým byla problematika sledování biomarkerů oxidačního stresu s využitím metod vysokoúčinné kapalinové chromatografie (HPLC). V rámci písemného zadání práce byly stanoveny jako cíle práce vypracování metody pro hodnocení vybraných markerů oxidačního stresu s využitím HPLC instrumentace a jejich následné využití pro stanovení markerů v biologickém materiálu za účelem hodnocení toxického působení vybraných látek a poškození organizmu v průběhu experimentů. Studentka naplnila uvedené cíle, vyvinula citlivou a selektivní metodu, využívající HPLC ve spojení s tandemovou hmotnostně spektrometrickou detekcí (LC-MS/MS) pro simultánní stanovení dvou biomarkerů oxidačního stresu, malondialdehydu (MDA) a 3-nitrotyrosinu (3-NT), z biologických matric. Dále byla zavedena a optimalizována chromatografická metoda se spektrofotometrickou detekcí (HPLC-UV/VIS) pro hodnocení thiolové redoxní rovnováhy v podobě volných thiolů a disulfidů. Metody byly s úspěchem využity pro analýzu biologických vzorků, pocházející z *in vitro* experimentu, kdy byla buněčná linie vystavena působení vybraných anidot otrav nervově paralytickými látkami a dále byly použity pro monitorování ukazatelů oxidačního stresu v mozkomíšním moku pacientů s diagnostikovanou Alzheimerovou chorobou, léčených memantinem

Zvolené metody řešení, konkrétně použití LC-MS/MS a HPLC-UV/VIS, úspěšně vedly ke splnění cílů práce. Závěry, prezentované v práci, potvrdily správnost zvolených metod a dosažených výsledků. Vyplývá to jednak z provedené validace vyvinutých metod, kdy byla posouzena selektivita, správnost, krátkodobá i dlouhodobá přesnost, návratnost pracovního postupu a vliv matricových efektů a dále z dosažených výsledků v rámci hodnocení biologických vzorků z *in vitro* experimentu a vzorků od pacientů.

Úroveň přínosu práce studenta i vlastní přínos práce pro obor lze spatřovat ve vyvinutí nových metod, které oproti metodám, publikovaným v odborné literatuře, přinášejí řadu zlepšení, spočívající zejména v možnosti simultánního stanovení MDA a 3-NT, což vede k nižší spotřebě vzorků a snížení možných chyb v rámci jejich zpracování. Metoda pro stanovení volných thiolů a disulfidů poskytuje oproti běžně používaným spektrofotometrickým metodám zejména vyšší

citlivost a selektivitu. Dalším dokladem úrovně práce studentky je úspěšné zveřejnění výsledků práce v časopisech s impakt faktorem.

Práce splňuje požadavky na disertační práce stanovené vnitřními předpisy univerzity, a to včetně kontroly na původnost a osobitost disertační práce a formální požadavky stanovené Opatřením rektora UO č. 3/2018.

Z výše uvedených důvodů dizertační práci Mgr. Nely Váňové doporučuji k obhajobě.

Datum: 22. 3. 2019 Podpis školitele: .....