

# Oponentský posudek disertační práce

**Název disertační práce:** Využití moderních analytických metod v klinickém výzkumu

**Autorka disertační práce:** Mgr. Andrea Vernerová

Předložená disertační práce Mgr. Andrey Vernerové se zaměřuje na prezentaci výzkumné práce v oblasti bioanalytické chemie s využitím kapalinové chromatografie a různých typů detektorů, kterou se autorce společně s jejími kolegy podařilo úspěšně provést oponentním řízením a publikovat v pěti významných odborných časopisech s impaktním faktorem. Podstatou tohoto výzkumného úsilí byl vývoj, optimalizace a validace HPLC-DAD-FLD a UHPLC-FLD-MS/MS metod pro stanovení neopterinu, tryptofanu, kynureninu, kreatininu a kyseliny močové ve slinách a v gingivální tekutině. Kromě komentáře k přiloženým publikacím zaměřených na vývoj nových chromatografických metodik pro stanovení vybraných biomarkerů aktivace imunitního systému autorka zařadila do disertační práce rovněž pojednání o stanovení kvantitativního profilu oxidativní fosforylace lidských trombocytů s využitím oxymetrického senzoru.

Teoretická část disertační práce představuje stručný a přehledný popis základních charakteristik nejdůležitějších biologických matric, jako je krev a moč, které se v klinické lékařské praxi rutinně analyzují. Dále následují kapitoly zaměřené na prezentaci chemických struktur, fyzikálně-chemických vlastností a biologických funkcí zvolených analytů. Stručně je rovněž uveden základní popis kapalinové chromatografie a vybraných typů detekce analytů. Na závěr teoretické části je připojen popis některých dalších metod užívaných k úpravě biologických vzorků před analýzou, dále jsou pak zmíněny základní vlastnosti vybraných biosenzorů a principy validace analytických metod dle doporučení EMA, FDA a ICH.

Na teoretickou část navazuje komentář k pěti odborným článkům, z nichž u 4 je Mgr. Andrea Vernerová hlavní autorkou. Kromě komentáře prvnímu článku, který je zaměřen na rešerši odborných prací o neinvazivním stanovení kyseliny močové, je v této části disertační práce stručně vysvětlen základní cíl každé vybrané odborné publikace, dále je uveden popis zvolené metodiky, některé výsledky, diskuze a závěrečné zhodnocení.

Disertační práce v rozsahu 138 stránek bez příloh je logicky sestavena a po formální i věcné stránce působí uceleným dojmem. V práci je citováno celkem 220 relevantních odborných publikací, je v ní zařazeno 48 obrázků a 7 tabulek. V textu je naprosté minimum překlepů či gramatických chyb. Teoretická část má odpovídající hloubku i rozsah, který koresponduje s komentovanými publikacemi, ačkoli studie oxidativní fosforylace trombocytů pomocí biosenzorů se poněkud odklání od těžiště disertační práce, které spočívá v chromatografii. Odborný styl autorky nicméně dokládá, že se se zvolenou problematikou náležitě seznámila a dokáže ji kriticky analyzovat.

Po pročetí celé práce a přiložených publikací navrhuji, aby při obhajobě byly diskutovány následující otázky:

- 1) Na str. 5 (Obr. 5) je uvedeno, že mezi anorganickými látkami obsaženými ve slinách je zastoupen např. sodík a fluor. Nebylo by přesnější vyjádřit, že se jedná o ionty těchto prvků?

- 2) Na str. 30 (Obr. 10) je uveden strukturní vzorec neopterinu a některé jeho fyzikálně-chemické vlastnosti. Bylo by možné určit, při jakém pH se uvedený tautomer neopterinu majoritně vyskytuje ve vodném roztoku?
- 3) V druhé komentované práci (Talanta 233 (2021)) uvádíte, že vzhledem vyšší polaritě studovaných analytů byl při chromatografických analýzách zkoumán také HILIC mód. Můžete, prosím, uvést, jaké bylo při testování HILIC režimu použito rozpouštědlo vzorku?
- 4) V třetí komentované práci (Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis 212 (2022)) je zmíněno, že se zvolený kalibrační rozsah kvantifikace neopterinu pohyboval od 0.5 nmol/L do 100  $\mu$ mol/L. Jakých detekčních limitů by bylo možné uvedenou chromatografickou metodikou dosáhnout, když by nebyl k dispozici hmotnostní spektrometr a bylo by nutné využít jiné typy detekce?

Po důkladném zvážení kvality disertační práce, a s ní souvisejících publikačních a dalších vědeckých aktivit, si dovoluji říci, že:

**disertační práci Mgr. Andrey Vernerové doporučuji k obhajobě.**

V Hradci Králové dne 14.10.2022

Doc. Mgr. et Mgr. Rafael Doležal, Ph.D.