

POSUDEK DISERTAČNÍ PRÁCE

Název: Uplatnění moderních separačních technik v analýze biologického materiálu

Autor: Mgr. Barbora Červinková

Oponent: Doc. PharmDr. Petra Kovaříková, Ph.D.

Disertační práce Mgr. Červinkové obsahuje 119 stran textu a je doplněna přílohami (kopie 7 publikací). Autorka v práci cituje 154 literárních zdrojů. Hlavním cílem disertační práce bylo vyvinout, optimalizovat a validovat nové bioanalytické metody pro stanovení vybraných vitamínů, markerů oxidačního stresu a zánětu v relevantních různých biologických matricích. Při vývoji a optimalizaci byl kladen důraz na modernizaci a zrychlení stávajících analytických metod. Dále se autorka podílela na analýze vzorků odebraných pacientům s cílem získat nové informace pro případnou inovaci diagnostických či léčebných postupů.

Teoretická část je sepsána poměrně jasně a výstižně. Autorka se v ní ve stručnosti věnuje principům vybraných metod úpravy biologických vzorků, jak konvenčním tak moderním přístupům. Dále komentuje vybrané trendy v současné kapalinové chromatografii a charakterizuje analyzované látky. Další kapitoly jsou věnovány zásadám manipulace s biologickým materiálem a validacím bioanalytických metod. Pozitivně hodnotím zejména zařazení kapitoly, která poskytuje pro čtenáře zajímavý přehled o pravidlech odběru a zacházení s biologickými vzorky, včetně dopadu jejich porušení na výsledky laboratorních stanovení. Nicméně v tomto kontextu mi zde trochu chyběly detailnější informace o specifikách úpravy jednotlivých biologických materiálů před vlastní analýzou.

Experimentální práce je tvořena komentářem k 7 publikovaným článkům, které jsou rozděleny na publikace s analytickou (4x) a biomedicínskou tematikou (3x). Všechny byly uveřejněny v časopisech s IF (v rozmezí 0,9-3,4). Mgr. Červinková je ve 3 případech první autorka (2x experimentální a 1x přehledový článek). Publikační aktivita doktorandky je tedy nadstandardní a převyšuje požadavky pro disertační práce.

K předložené práci mám následující připomínky.

- Str. 23: Pro stanovení jaké ze základních charakteristik léčiva, lze použít odstranění proteinů pomocí centrifugace a membrány o definované velikosti póru, tedy metody ultrafiltrace?
- Str. 30: Obr 6: Odkud byl obrázek převzat a jaké uspořádání porézní vrstvy lze u komerčních „core shell“ částic najít nejčastěji?
- Str. 69: Jaké jsou správné české výrazy pro anglické termíny „Precision“ a „Accuracy“ a jak se tyto parametry dle FDA/EMA norem stanovují? Z textu práce toto není zcela jasné. V práci píšete o „opakovatelnosti extrakce“, avšak FDA/EMA normy používají termín „precision“ spíše pro celou analytickou metodu. Můžete toto objasnit?
- Str. 69: Pro chromatografické metody, které jsou náplní disertační práce, není dle FDA přípustný limit pro RSD na extrémně nízkých hladinách (LLOQ) 25%, jak je uvedeno v textu.

- Str. 83: Hodnoty LLOQ jsou nižší než spodní bod kalibrační křivky (např. retinol 0,013 μM vs. 0,18 μM). Jakým způsobem jste na LLOQ prokazovali „accuracy“?

Námět do diskuze:

- V práci uvádíte, že mezi nevýhody SPE patří horší opakovatelnost mezi šaržemi. Máte s tímto jevem nějakou osobní zkušenost? Nebo se spíše přikláníte k názoru, že se v dnešní době již zlepšila technologie výroby kolonek a tak už tento problém není až tak aktuální jak dříve?

Závěrem lze shrnout, že Mgr. Červinková prokázala schopnost samostatné vědecké práce. Výsledky, které získala v průběhu doktorského studia, jsou nové a originální. Jejich kvalitu mimo jiné jasně dokládají publikace v časopisech s významným IF. Přípomínky oponenta uvedené výše nesnižují kvalitu předložené disertační práce.

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

V Hradci Králové: 31.7. 2017

Doc. PharmDr. Petra Kovaříková, Ph.D.