

Oponentský posudek na diplomovou práci

Téma práce: Stanovení cyklosporinu metodou přímého nástřiku ve spojení s tandemovou hmotnostní spektrometrií

Jméno studenta: Bc. Josef Jureček

Oponent: Mgr. Petr Wojtowicz

Vlastní komentář

Předložená práce se zabývá kvantifikací imunosupresiva cyklosporinu A (cyA) ve vzorcích krve pacientů pro klinický monitoring jejich léčby. V teoretické části práce jsou nejprve shrnuty léčebné vlastnosti, biotransformace a možnosti stanovení jmenovaného imunosupresiva, dále jsou pak popsány principy hmotnostní spektrometrie a metody přímého nástřiku do hmotnostního spektrometru (FIA-MS). Praktická část se skládá z vývoje a validace FIA-MS/MS metody a její aplikace na reálné vzorky pacientů. Navíc bylo provedeno srovnání vyvinuté metody s metodou využívající separaci kapalinovou chromatografií v současnosti rutinně používanou v LDMP FN Olomouc.

Práce čítá celkem 61 stran textu, obsahuje 27 obrázků a 4 tabulky. Cíle uvedené v úvodu práce se podařilo splnit, ovšem jejich celková prezentace je místy podprůměrná. Následně uvádím několik bodů, které považuji v této souvislosti za zásadní:

1. Citační etika – soupis použité literatury není uveden v jednotné formě, internetové odkazy jsou citovány nesprávně (pouze http adresa je nedostačující), mnohé faktické informace nemají citační odkaz (př. str. 10: biologická dostupnost cyA, celá kap. 2.1.1.), některé odkazy jsou vyloženy mylně (př. str. 10: první použití cyA v roce 1980 mohlo být jen stěží popsáno v článku z roku 1978);
2. Popis výsledků – ač je popisovaná metoda založena na MS/MS detekci, nejsou nikde v práci uvedeny příslušné MRM přechody cyA ani interního standardu; popis optimalizace MS parametrů není dostatečně komentován, jsou uvedeny pouze obrázky;
3. Grafická úprava – obrázky v teoretické části jsou ve větší míře pouze stažené z internetového zdroje s původním anglickým komentářem, zde bych volil s ohledem na jazyk textu raději české úpravy; některé obrázky jsou tištěny v nedostatečném rozlišení (př. Obr. 11, 12), použité zkratky nejsou vysvětleny (Obr. 2);
4. Formální členění práce – v práci zcela chybí anotace a její anglický překlad, po cílech práce následuje ihned teoretická část, bez úvodu.

Drobné připomínky

- s. 10 a několikrát dále – „kalcineurin fosfatasa“ je česky nesprávné označení enzymu, jedná se o kalcium-dependentní serin-threoninfosfatasu, jejíž triviální název je kalcineurin
- s. 10 – *monokleárními* → mononukleárními
- s. 12 – *mytochondrií* → mitochondrií


- s. 12 – *defosforilovat* → defosforylovat
- s. 13, 14 – metabolizace cyA – popsány jsou reakce na aminokyselinových zbytcích, jež jsou označeny pouze číslem, ty však nejsou dále vysvětleny
- s. 15 – poslední odstavec je zcela mimo téma, doslova přeložen z publikace zjevně nesouvisející s výše popisovanou problematikou
- s. 18 – Princip a konstrukce stroje je (*jsou*) zde podobná (*podobné*) s EI (...)
- s. 19 – *nepolárnější* látky → lépe *méně polární*
- s. 21 – biopolymery s *hmotnostní* → s *hmotností*
- s. 21 – „Laserem desorbovaný analyt ...“ je uvedeno v odstavci DART a DESI – laser u těchto technik opravdu není potřeba
- s. 22 – Mass *Sccuracy* → Mass *Accuracy*, navíc chybně uvedeno jako *správnost*, jedná se o *přesnost*
- s. 32 – *injektování* → injektivování
- s. 32 – (...) je možno použít možností (...)
- s. 33 – „použití injekčně vázané *plazmy*“ → plasmatu
- s. 39 – „Výpočet linearit byl proveden metodou nejmenších čtverců“ Toto je metoda lineární regrese, která dovoluje odhadnout směrnici a úsek kalibrační přímky
- s. 40 – je zde zmíněno měření *nepřesnosti*, toto je ovšem veličina, která odráží celkovou možnou nejistotu měřicího procesu a tato analýza v práci provedena nebyla
- citace “Elrod et al., 2010“ je v seznamu použité literatury uvedena dvakrát, cit. 17 a 18
- s. 57, cit 23 – o časopise s názvem „Journal of Chromatography C“ jsem nikdy neslyšel...
- s. 57, cit 25 – ISBN je špatné
- názvosloví – v práci není respektováno doporučení českého názvosloví (např. enzymů *propionyl-CoA-karboxyláza*)
- mnohokrát zmíněný klasický nešvar neanalytiků – záměna pojmů citlivost a limit detekce

Dotazy k práci

- Uveďte použité MRM přechody pro cyA a interní standard.
- V práci je zmíněno standardní stanovení cyA imunochemickou metodou. Byly někdy publikovány studie porovnávající tento přístup s nějakou LC metodou podobnou té vaší? Lze tyto přístupy srovnat například z hlediska časové náročnosti a ekonomiky?
- s. 40 – Byly připraveny vzorky s potlačeným vlivem iontové suprese. Jak byly takovéto vzorky připravovány? Vysvětlete, proč byla iontová suprese počítána z výšky píku? Je tento postup pro FIA analýzy vůbec přijatelný?
- s 43 – „Nejlepších výsledků analýz bylo dosaženo...“ Co je to *nejlepší výsledek*? Další uvedené parametry byly převzaty z nějaké publikace, nebo je to doporučení výrobce?

Závěr: práci **doporučuji** k obhajobě, navrhuji známku **velmi dobře**

V Olomouci dne 27. 5. 2012



 Mgr. Petr WOJTOWICZ
 Katedra analytické chemie, PčF UPOL