



Bírálat Gáspár Attila: *Elektroforetikus elválasztások fejlesztése kapillárisban és mikrocshipben* című akadémiai doktori értekezéséről

Disszertációjában az elmúlt 15 évben kapillárisban és mikrocshipben történő elektroforetikus elválasztások területén végzett munkáit foglalja össze Gáspár Attila. Meglehetősen sokféle elválasztási feladattal foglalkozott ezen idő alatt, így igen szerteágazó témákban született az a 29 közlemény, amiben az értekezésének alapját képező eredményeit publikálta. Ezek az eredmények jelentősek, amit jelez többek között az azokat ismertető közlemények száma és idézettségük.

A disszertáció a szokásos felépítést követi, egy rövid irodalmi összefoglalót és a célkitűzést követően két külön alfejezetben kerül bemutatásra a kapillárisban és a mikrocshipben végzett munka, s ezeken belül további alpontokba csoportosítva az egymással laza kapcsolatban lévő sokféle téma eredményei. Bár leírásukat sikerült ésszerű terjedelmi keretek között tartania a szerzőnek, talán érdemes lett volna válogatnia a bemutatott eredményekből. Ezzel lehetőség nyílt volna az alaposabb diszkusszióra. A sokféle eredmény impresszív ugyan, de ugyanilyen fontos az is, hogy a kutatómunka összefoglalásakor a doktori értekezésben az eredmények átfogó értékelése jelenjen meg, ne csupán az egyes cikkekben közölt diszkussziók egybefűzése. A mindössze kétoldali módszerek fejezetben a készülékek és mikrofluidikai csipek készítésének leírásán túl érdemes lett volna kitérnie pl. az egyes vizsgálatoknál alkalmazott számítási módok vagy a klinikai minták elemzésére fejlesztett módszerek teljesítőképessége vizsgálatának ismertetésére is, mert esetenként hiányos a leírt eredmények megértéséhez, értelmezéséhez szükséges információ. Például

- nem világos, hogy az arzénvegyületek (5.1.2.1. fejezet) elválasztására bemutatott módszer végül is alkalmas-e valós minták analízisére.
- Mik a validációs jellemzői a nitrit, nitrát és tiocianát nyálmintából való meghatározására fejlesztett módszernek (5.1.3.1. fejezet)? Miután kimutatta a nitrát és nitrit mennyiségének gyors csökkenését a mintában, foglalkozott-e ennek kiküszöbölésével, pl. megfelelő mintaelőkészítés alkalmazásával? Alkalmas a nyálminta direkt injektálására fejlesztett módszer a nitrát és a nitrit meghatározására a biológiai mintában?
- Nem adja meg az 5.1.2.4. fejezetben, hogy pontosan hogy történt a számolás a két belső standard alkalmazásakor.
- A kefalosporinok elválasztására kidolgozott módszer (5.1.3.3. fejezet) esetében sem ismerteti a mérés lineáris tartományát, a kvantitatív meghatározás alsó határát vagy a torzítatlanságot (csak a precizitást és a kimutathatósági határt adja meg), így nem derül ki, hogy ezeket meghatározta-e és megfelelőek-e. Érdemes lett volna megadni, hogy a 24.

ábrán bemutatott elektroferogramok alapján mennyi volt a cefazolin koncentrációja a szérumban a beadását követő különböző időpontokban.

Néhány kísérlet tervezése vagy leírása esetében is előfordul pontatlanság, például:

- A 2. és 3. táblázatban bemutatott valós és számított koncentrációértékek közötti eltérés egyes esetekben nagyobb a szövegben deklarált legfeljebb 5%-nál.
- A 4. táblázatban mutatja be a belső standard alkalmazásának hatását a migrációs idő és a jelterületek szórására. A méréseknél az egyes mintakomponenseket 1 mM koncentrációban alkalmazta. Ez a választás – bár valószínűleg nem befolyásolta lényegesen a reprodukálhatósági jellemzőket – azért furcsa, mert a mintakomponensek felénél ez a megadott lineáris koncentrációtartományon kívül esik. Emellett nem vont le azt a nyilvánvaló következtetést, amit mérései is alátámasztanak, hogy a belső standard csak akkor javítja a reprodukálhatóságot, ha kellően közel vándorol a mintakomponenshez.
- Az 5. táblázatban bemutatott adatok alapján mennyire megalapozott, hogy eltérő a kefalosporinok penetrációja a sputumba, amikor megjegyzi, hogy a ceftriaxon felezési ideje hosszabb (8 óra), mint a többi származéké (1-3 óra), ennek ellenére a mintavétel egységesen 6 órával a kezelést követően történt?
- Ha a 32. és 33. ábrán bemutatott elektroferogramok azonos kísérleti körülmények között készültek (amint az az ábraalírásban szerepel), miért van közel tízszeres különbség a migrációs időkben?
- A temozolomid agytumor mintákban történő mérése esetében meghatározta-e a visszanyerést? Extrakció és százszoros mintadúsítás esetén jelentős mintavesztés történhet. Mivel végezte az extrahálást?
- Az összefoglalásban, a 127. oldalon leírtak alapján nem egyértelmű, hogy az agytumor mintákat liofilizálást követő sósavas oldás után közvetlenül is injektálta-e a kapillárisba, vagy csak a 70. oldalon leírt extrahálást és mintadúsítást követően.
- A 72. oldal első mondatában konkrétan le kellene írnia, hogy melyik vizeletben ürülő anyag csúcsához viszonyítva adta meg a kontrasztanyagokét.

Ezen kritikai észrevételek mellett is egyértelműen megállapítható, hogy a disszertációban ismertetett eredmények értékesek, hozzájárultak a kapillárisban és mikrocseppekben végzett elektroforetikus elválasztások egyes technikai kérdéseinek megoldásához és gyakorlati alkalmazásuk szélesítéséhez egyaránt. Gáspár Attila eredményeivel hozzájárult

- az elektroforetikus elválasztásoknál alkalmazott mintainjektálási hibák kiküszöbölési lehetőségeinek jobb megismeréséhez,
- a klinikai szempontból fontos analitikai feladatok olyan gyors módszereinek kidolgozásához, amik a biológiai minták közvetlen injektálásával megvalósíthatóak,

- olyan mikrofluidikai eljárások kidolgozásához, amik a mikrocsipekbe való pontos mintainjektálást vagy kromatográfiás töltetek frit alkalmazása nélküli kialakítását, illetve párhuzamos csatornában történő elválasztást tesznek lehetővé,
- mikrocsipekben végzett elválasztásoknál alkalmazható új detektálási lehetőségek megismeréséhez,
- miniatürizált kapilláris elektroforetikus elválasztás megvalósításához.

További kérdéseim:

- Hogyan magyarázza, hogy az egyszeres töltésű Gd-komplexek elválasztása javul MEKC alkalmazásakor? (Csak a semleges és két negatív töltésű komplexeket diszkutálja, míg a 14. ábrán látható, hogy az egyszeres töltésű komplexek elválasztása is javul).
- Van-e a gyakorlatban korlátozó tényezője nagyszámú párhuzamos csatorna mikrocsipekben való olyan kialakításának, ahol nem változik a csatornában az áramlási sebesség, mert minden csatornát egyidejűleg ér el a bejuttatott folyadék (63.c ábra)? Vizsgáltak-e ilyen csatorna-elrendezést, vagy van-e erre vonatkozóan irodalmi adat?
- Több elválasztást is összehasonlított kapillárison és mikrocsipen. Mekkora eltérést tapasztalt a két módszer kvantitatív érzékenységében és pontosságában? A gyorsabb elválasztások mellett véleménye szerint javítható-e a kvantitatív meghatározás érzékenysége mikrocsipekben?

A disszertációban foglaltak alapján jól látszik Gáspár Attila kutatómunkájának íve, ami elsősorban a mikrocsipekben végzett elektroforetikus elválasztások sarkalatos problémáinak megoldását célzó munkákban csúcsosodik ki. A korábbi témákban, a kapilláris elektroforézis módszerek fejlesztésénél adódó kérdéseket részleteiben nem tárgyalja az értekezésében, a módszerek teljesítőképességét csak néhány esetben adja meg. Feltétlenül értékelendő ugyanakkor, hogy a biológiai minták esetében azok közvetlen injektálásával megvalósítható és gyors elválasztást biztosító módszerek kidolgozására törekedett. Értékesek a mikrocsipekben kidolgozott technikai megoldásai, melyek megalapozottabbá teszik gyakorlati alkalmazhatóságukat.

A doktori munka eredményeit értékesnek, az MTA doktora cím megszerzéséhez elegendőnek tartom. A nyilvános védés kitűzését és az MTA doktora cím odaítélését javaslom.

Budapest, 2015. szeptember 16.

Dr. Szökő Éva  
egyetemi tanár

