PŘÍRODOVĚDECKÁ
FAKULTA
Univerzita Karlova

Oponentský posudek disertační práce

Název: Lipidomic analysis of fatty acid esters and their metabolism using LC-MS and GC-MS

Autor: Mgr. Martin Riečan

Vedoucí práce: RNDr. Ondřej Kuda, Ph.D.

Konzultant: RNDr. Jana Sobotníková, Ph.D.

Oponent: doc. RNDr. Tomáš Křížek, Ph.D.

Předložená disertační práce se zabývá vývojem a optimalizací metod LC-MS kvantifikace bioaktivních lipidů a steroidních hormonů pro účely lipidomického výzkumu funkce větvených esterů oxidovaných mastných kyselin (FAHFA) v metabolismu a jeho regulaci. Jedná se o aktuální a důležité téma, neboť FAHFA vykazují protizánětlivé, antidiabetické či antioxidační účinky a hlubší pochopení jejich funkce může vést k objevu nových léčebných postupů nebo nových metod prevence závažných onemocnění. V závěrečné části jsou optimalizované metody s úspěchem aplikovány při dvou lipidomických studiích, a to při sledování vlivu pohlavních hormonů na hladiny FAHFA u myší, a při studiu zastoupení FAHFA v různých druzích jedlých hub. Použitelnost vyvinutých metod byla tedy jednoznačně prokázána.

Práce je založena na čtyřech publikacích ve vysoce renomovaných vědeckých časopisech, z nichž u dvou je uchazeč prvním autorem, u dvou pak spoluautorem. Kromě toho je uchazeč spoluautorem dalších tří rovněž velmi kvalitních publikací.

Autor čtenáře na 123 stranách v anglickém jazyce seznamuje se studovanou problematikou a dosaženými výsledky. V úvodu je podrobně popsána a vysvětlena studovaná problematika. Z této části práce je naprosto zřejmý význam výzkumu a jeho společenská důležitost. V experimentální části jsou podrobně popsány používané postupy a metody. Výsledky jsou prezentovány přehledně a srozumitelně a jsou zasvěceně diskutovány. Z této části je patrný uchazečův přehled a orientace ve složité problematice. Úvod a diskuze se opírají o 299 kvalitních literárních zdrojů. Oceňuji cílevědomé zaměření práce na získání věrohodných výsledků pro lipodomický výzkum se zapojením různých instrumentálních technik (kapalinová i plynová chromatografie) a komplexních postupů úpravy vzorků včetně derivatizací. Vytyčené cíle byly jednoznačně splněny.

V práci se objevuje minimum překlepů a gramatických chyb. Práce je psána čtivě a srozumitelně. Všechny závěry jsou založeny na získaných experimentálních výsledcích či věrohodných literárních zdrojích.

K práci mám následující drobné připomínky:

- V úvodní části jsou popisovány i naprosto základní věci, jako princip plynové a kapalinové chromatografie nebo schémata a popis základních součástí přístrojů, což jsou záležitosti, které je ve specializované práci na úrovni disertace již zbytečné vysvětlovat.
- V rámci práce je zavedeno více než sto zkratek. Pro čtenáře, který s většinou z nich běžně nepracuje, to činí text obtížněji srozumitelným, protože takové množství nových zkratek neudrží v paměti a dohledávání jejich významů výrazně narušuje plynulost čtení.

adresa: Albertov 6, 128 43 Praha 2
ičo: 00216208, **dič:** CZ00216208
telefon: 221 951 111
fax: 22195 1125
e-mail: prirodovedecka@natur.cuni.cz
web: www.natur.cuni.cz

- Na str. 75 je nesprávně použit termín „separation efficiency“ ve spojení „separation efficiency was assessed based on peak resolution (R)“. Vhodnější by bylo použít např. výraz „method performance“, protože spojení „separation efficiency“ je v odborné literatuře používáno pro účinnost separace vyjádřenou počtem teoretických pater nebo hodnotou výškového evivalentu teoretického patra.
- Popisky obrázků často přesahují na další stránku a někdy může být nejasné, zda se jedná o pokračování popisku a či pokračování hlavního textu.

Dotazy k obhajobě

1. V kap. 12 na str. 62 je uvedeno, že při použití většího objemu vzorku výrazně klesla naměřená koncentrace 9-PAHSA. Můžete, prosím, upřesnit, zda celý postup zůstal identický a pouze se změnil objem vzorku, či zda se měnily i objemy jiných činidel? Je koncentrace vynesená na Obr. 16 přepočtena na původní vzorek se započtením rozdílů ve vstupním objemu vzorku, nebo se jedná o koncentraci ve výsledném vzorku po jeho úpravě?
2. V kap. 13 na str. 72 byly analyty derivatizovány pro zvýšení účinnosti ionizace a následně extrahovány za podmínek dříve optimalizovaných pro nederivatizované FAHFA. Mohla derivatizace ovlivnit polaritu analytů a tím i vhodnost zvoleného extrakčního činidla?
3. V kap. 13 nebylo dosaženo úplné separace derivatizovaných FAHFA, a proto byla při lipidomických studiích použita metoda s nederivatizovanými FAHFA. Nebylo by možné metodu s derivatizací použít, pokud by se sledovalo současně několik MRM přechodů pro různé analyty, jak to bylo provedeno v případě stanovení steroidních hormonů?

Závěr

Předložená disertační práce a publikace v prestižních vědeckých časopisech dokládají, že Mgr. Martin Riečan má hluboké znalosti studované problematiky a je schopen samostatné vědecké práce od plánování experimentů, přes jejich provedení až po publikaci dosažených výsledků.

Předložená práce splňuje požadavky kladené na disertační práce, a proto ji vřele doporučuji k obhajobě a rovněž doporučuji, aby se stala podkladem pro udělení titulu Ph.D. panu Mgr. Martinu Riečanovi.

V Praze 17. 6. 2025

doc. RNDr. Tomáš Křížek, Ph.D.

Katedra analytické chemie
Přírodovědecká fakulta
Univerzita Karlova