



Ústav lékařské chemie a klinické biochemie
UK 2. lékařská fakulta a FN Motol
V Úvalu 84, 150 06 Praha 5 – Motol
tel.: 224 435 300
fax.: 224 435 320
přednosta: prof. MUDr. Richard Průša, CSc

POSUDEK OPONENTA K BAKALÁŘSKÉ PRÁCI

KATEŘINY DUNOVSKÉ

Stanovení vitamínu D a vitamínu K u pacientek s osteoporózou

Téma předložené bakalářské práce je poměrně aktuální a potřebné, spojené s problematikou stanovení vitamínů D a K u pacientů s osteoporózou, Práce je členěna na 5 hlavních kapitol. V první kapitole a podkapitolách spadajících do teoretické části autorka podává základní přehled o osteoporóze, jejích rizikových faktorech, diagnostických a vyšetřovacích postupech, prevenci a léčbě. Ve druhé podkapitole jsou podrobnou a přehlednou formou podány základní informace o vitamínech D a K, jejich metabolismu, fyziologickému významu, funkci a dalších biochemických aspektech. Další dvě podkapitoly zahrnují analytické a metodické postupy pro stanovení vitamínů D a K.

Teoretická část práce je zpracována velmi dobře s odpovídajícím počtem literárních odkazů.

V následující kapitole jsou přehledně a reálně definovány cíle práce (zavedení a validování metody na stanovení 25-OH vitamínu D₃ a 25-OH vitamínu D₂ v séru, porovnání výsledků měření vitamínu D u patientských vzorků získaných pomocí HPLC a imunochemického stanovení, Vyvinutí a validace metody pro stanovení vitamínu K₁ a K₂ v séru).

V experimentální části se autorka nejprve podrobně věnuje popisu metod a metodických postupů (přípravě reagensí, kalibrátorů, mobilní fáze, zásobních a standardních roztoků které jsou nezbytné pro analýzu a validaci jednotlivých metod), a následně popisu vlastní chromatografické analýzy. Všechny postupy jsou přehledně a kvalitně dokumentovány.

Výsledková část nejprve přehledně shrnuje výsledky validace metody pro vitamin D. Vybrané validační parametry (Kalibrace, opakovatelnost, reprodukovatelnost, správnost, mez

detekce, výtěžnost a robustnost jsou vhodně zvoleny a přehledně prezentovány. Následně je provedeno porovnání výsledků stanovení 25-OH vitamínu D₃ a D₂ u patientských vzorků s výsledky rutinně používaného imunochemického stanovení. Výsledky jsou odpovídajícím způsobem statisticky vyhodnoceny. Poslední kapitola výsledkové části se zabývá vývojem metody na stanovení vitaminů K₁ a K₂ v séru. Velmi podrobně popisuje obtíže spojené s hledáním vhodné chromatografické kolony a hledáním optimálních podmínek reakce. I přesto, že se nepodařilo metodu vyvinout, jsou poznatky diskutovány vhodnou formou.

V závěru autorka vyhovující formou shrnuje výsledky své práce. Ze stručných a správně formulovaných poznatků uvedených v závěru je zřejmé splnění cílů práce a správná interpretace získaných souvislostí.

K práci mám několik připomínek spíše formálního charakteru.

- 1) Domnívám se, že kapitola 4.1 popisující použitý kit pro vitamín D, která je uvedena jako první kapitola výsledkové části svým charakterem spadá spíše pod kapitolu č 3. Experimentální část, kde jsou uvedeny všechny údaje o reagentech.
- 2) Seznam zkratk by mohl být pro větší přehlednost řazen abecedně
- 3) Do grafů č 1-4, případně do tabulek 15-17 by bylo vhodné pro větší přehlednost doplnit hodnotu p

K autorce mám následující otázky:

- 1) **Autorka ve své práci na straně 28 uvádí, že vitamín K má významný antikancerózní efekt. Jakým způsobem tedy může vitamín K vyvolat apoptózu leukemických buněk?**
- 2) **Při provádění validace metody pro vitamín D použila autorka pro vyjádření přesnosti za podmínek opakovatelnosti a reprodukovatelnosti stejnou sadu vzorků kontrolního materiálu (nízkou a vysokou hladinu kontrol). Jak je patrné z výsledků v tabulkách 7-10 došlo při stanovení reprodukovatelnosti k mírnému poklesu hodnot kontrolního materiálu na obou hladinách. Jak autorka vysvětlí tento pokles hodnot?**

- 3) Z tabulky č 14 je patrné, že u čtyř pacientek, kterým byla nasazena léčba vigantolem, byly naměřeny po 3 měsících terapie nižší koncentrace 25-OH vitamínu D₃ pomocí HPLC, než jaké byly před léčbou. Recentní údaje ukazují, že po zahájení terapie může v počátečních fázích terapie dojít k poklesu koncentrací 25-OH vitamínu D₃. Domnívá se autorka, že by mohlo k objasnění příčin tohoto poklesu přispět vyšetření hladin vitamínu K₂ u těchto pacientů?

Uvedené připomínky a dotazy jsou pouze doplňujícího charakteru, práci doporučuji k obhajobě.

Navrhované hodnocení: VÝBORNĚ

V Praze, dne 26.4.2013


Ing. Karel Kotaška, Ph.D