

Posudek oponenta disertační práce

Autorka: Ing. Kateřina Dunovská

Název práce: Biochemie a patobiochemie fylochinonu a menachinonů

Oponent: RNDr. Romana Uřinová, Ph.D.

Předložená disertační práce se zabývá vývojem metod na stanovení tří forem vitamínu K, konkrétně vývojem vysokoúčinné kapalinové chromatografie s fluorescenční detekcí (HPLC-FLD) a vysokoúčinné kapalinové chromatografie s hmotnostní detekcí (LC-MS/MS).

Práce má klasické členění na úvod, teoretickou část, cíle práce, experimentální část, výsledky a diskuzi, závěr, souhrn, literaturu a seznam zkratk, obrázků, tabulek a publikací. Je sepsána na 121 stranách textu, obsahuje 39 obrázků, 36 tabulek a opírá se o 165 literárních citací. Teoretickou část autorka rozdělila na tři samostatné podkapitoly podrobně popisující vitamin K, vitamin K dependentní proteiny a metody stanovení vitamínu K. Z textu je patrné, že se autorka v problematice vitamínu K velmi dobře orientuje.

Další části textu jsou věnovány vlastní experimentální práci a získaným výsledkům. Příjemným zjištěním je skutečnost, že autorka použila metodu HPLC-FLD ke stanovení vitamínu K na počtu 350 pacientů a metodu LC/MS/MS na rozsáhlém počtu 950 pacientů. Do textu jsou vhodně zařazeny tabulky vystihující dosažené výsledky.

Cenným přínosem práce je vytvoření referenčních rozmezí pro jednotlivé formy vitamínu K, stanovení koncentrací tří forem vitamínu K u postmenopauzálních žen. Dále stanovení vitamínu K a proteinu indukovaného nedostatkem vitamínu K u pacientů s cystickou fibrózou.

K předložené práci mám následující připomínky a dotazy:

- Na str. 11 je chybně uvedena citace.
- Ovlivňuje vitamin K₁ mineralizaci kostí?
- Autorka ve své práci popisuje validaci metody HPLC-FLD a LC/MS/MS. Z jakého důvodu je validace metody HPLC-FLD provedena na dvou koncentračních hladinách a validace LC/MS/MS metody na třech koncentračních hladinách?
- Jaká byla kritéria pro výběr pacientů s cystickou fibrózou pro stanovení proteinu indukovaného nedostatkem vitamínu K?

- Na str. 114 je uvedeno, že u kapalinové chromatografie s fluorescenční detekcí nelze minimalizovat některé interference, jako příklad jsou uvedeny lipidy. Bylo toto tvrzení ověřeno při vývoji metody nebo vychází z literatury?
- Text ze str. 116 a 117 se opakuje na str. 118 a 119.

Závěr:

Disertační práce je aktuální a přínosná. Je velmi záslužné, že se autorka věnuje problematice, která je u nás opomíjena. K řešení problému autorka přistupovala systematicky, použité metody jsou adekvátní a splnila vytyčené cíle. Přes uvedené připomínky lze konstatovat, že předložená práce je v souladu s požadavky kladenými na disertační práci.

Vzhledem k výše uvedenému doporučuji přijetí práce k obhajobě.

V Ostravě, 26.10.2020

RNĎr. Romana Uřinová, Ph.D.