

Posudek oponenta na diplomovou práci

Autor práce: Bc. Radka Freitagová

Název práce: LC-MS/MS analýza cukrů a polyolů v moči pro diagnostiku vybraných dědičných metabolických poruch

Oponent práce: RNDr. Josef Bártl, Ph.D.

Poř. číslo	Kritérium hodnocení	Body (0-5)
1	Ucelenost a aktuálnost řešeršní části práce	5
2	Kvalita úvodní části práce (množství použitých původních pramenných zdrojů, vhodnost výběru)	5
3	Naplnění cílů práce	4
4	Logika postupu při vlastní řešeršní nebo experimentální práci	5
5	Úplnost popisu používaných metodik a postupů	5
6	Úroveň zpracování výsledků (vhodné používání grafů a tabulek atd.)	5
7	Adekvátnost interpretace získaných výsledků a jejich diskuse	4
8	Výstižnost souhrnů práce v českém a anglickém jazyce	5
9	Grafická úprava textu a obrázků	5
10	Jazyková a stylistická úroveň, respektování platného názvosloví	5
11	Správnost a úplnost legend u obrázků a tabulek (srozumitelnost bez zřetele k ostatnímu textu, vysvětlení značek, jednotky uváděných veličin)	5
12	Správnost používání citačních odkazů (přítomnost necitovaných údajů, dodržování jednotného stylu citací, používání oficiálních zkratk časopisů)	5
Celkem bodů		58

max
60

Konkrétní připomínky a dotazy (možno připojit samostatný list)

Předložená diplomová práce se zabývá vývojem a diagnostickou aplikací metody tandemové hmotnostní spektrometrie v kombinaci s kapalinovou chromatografií v oblasti stanovení sacharidů a polyolů. V teoretické části autorka velmi kvalitně zpracovala řešerši aktuálního stavu patobiochemie poruch metabolismu sacharidů a analytických přístupů ke stanovení asociovaných diagnostických markerů. Tato část je obsahově podrobná a zároveň si zachovává formální přehlednost. Zpracování svědčí o tom, že autorka nastudovala problematiku do hloubky s ohledem na recentní literaturu.

V rámci praktické části je popsán vývoj a částečná validace LC-MS/MS metody pro stanovení diagnosticky významných sacharidů a polyolů v moči. Následně byla tato metoda úspěšně aplikována na vybrané klinické vzorky, kde dokázala odlišit pozitivní pacienty od negativních kontrol. Experimentální část je dobře strukturovaná s přehledným popisem, nicméně je mírně nejasný popis role kreatininu. Autorka uvádí, že jeho stanovení je součástí metody, zároveň je uvedeno, že vzorky jsou před analýzou ředěny na kreatinin 1 mmol/L. Ve výsledcích by bylo zajímavé vidět porovnání dat koncentrací klíčových metabolitů získaných touto metodou a rutinní metodou GC. Předpokládám, že toto srovnání je zamýšleno v dalších

validačních testech. Stejně jako tvorba referenčního rozmezí, které je u některých markerů věkově dependentní.

Laboratorní stanovení sacharidů a polyolů je převážně doménou plynové chromatografie, proto hodnotím tuto práci jako velmi zdařilý krok s aplikačním potenciálem pro detekci vzácných chorob metabolismu sacharidů, jdoucí nad rámec diplomové práce. Především rychlost získání dat a minimální nároky na množství vzorku se jeví jako výhodné. Dále možnost kvantifikace tetrasacharidu glukosy asociovaného s některými typy glykogenos může být zajímavým diagnostickým přínosem. Zároveň je ovšem třeba říci, že metoda vyžaduje pro aplikaci do klinické praxe další nezbytné validační procesy, čehož si je autorka v diskusi vědoma.

Celkově hodnotím diplomovou práci jako obsahově i formálně velmi zdařilou a přínosnou.

Konkrétní dotazy:

- 1) Vzhledem k některým separačně kritickým párům (galaktitol/mannitol, ribitol/arabitol či manosa/glukosa), bylo zvažováno testování i jiných chromatografických kolon, případně byly testovány i jiné chromatografické podmínky?
- 2) Byly pozorovány nějaké interference či komplikace na jednotlivých MRM přechodech v biologické matrici (není uveden celkový chromatogram analýzy biologického vzorku moče)?
- 3) Jaký byl výsledek testování ostatních patientských vzorků. Byly nalezeny nějaké odchylky od kontrol?

Chyby, které je nutno opravit

Nejsou přítomny zásadní chyby, kvůli kterým by musela být práce předělána či korigována.

Závěr: práci doporučuji k obhajobě.

V Praze dne: 11.5.2023

Podpis

Hodnocení:

- A- 56-60
- B- 51-55
- C- 46-50
- D- 41-45
- E- 36 -40
- F- 35 a méně