

Posudek vedoucího diplomové práce

Katedra: Katedra analytické chemie

Autor: Bc. Denisa Kolářová

Název práce: Stanovení vybraných tříd sfingolipidů v lidské plazmě pomocí hmotnostní spektrometrie

Vedoucího diplomové práce: Ing. Robert Jirásko, Ph.D.

Diplomová práce odpovídá zadání, formální požadavky jsou dodrženy a jazyková úroveň textu i grafické zpracování jsou na velmi dobré úrovni. Studentka pracovala při řešení diplomové práce samostatně a přistupovala k plnění úkolů zodpovědně.

Z důvodu epidemických nařízeních, a tedy zákazu práce v laboratoři po většinu akademického roku, věnovala studentka velké množství času teoretické části a vypracovala rozsáhlou literární rešerši, ve které čerpá z více než stovky referencí v daném oboru. V první řadě se věnuje základnímu teoretickému popisu lipidů vyskytujících se v lidské plazmě a stručně vysvětluje jejich strukturní rozmanitost a biologický význam. V další části jsou prezentovány principy nejběžnějších ionizačních technik a hmotnostních analyzátorů, které se v analýze lipidů využívají. V poslední kapitole teoretické části jsou pak diskutovány konkrétní lipidomické přístupy od přípravy vzorku, přes vlastní hmotnostně spektrometrickou analýzu až po validaci metody.

V experimentální části jsou uvedeny použité chemikálie, instrumentace a dále jsou zde popsány metody přípravy vzorků, analytické podmínky finálních metod, postup validace a měření klinických vzorků plazmy.

V části „Výsledky a diskuze“ je popsána optimalizace metody a následně analytická validace metody. Validace prokázala, že metoda umožňuje spolehlivě kvantifikovat koncentračně hojně zastoupené sfingomyeliny společně s koncentračně méně zastoupenými ceramidy, hexosylceramidy a dihehosyl ceramidy. Pro ověření funkčnosti byla metoda aplikována pro stanovení těchto lipidů v referenčním materiálu NIST SRM 1950 plazmě. Porovnání zjištěných koncentrací 39 lipidů s literaturou ukazuje velmi dobrou shodu s publikovanými výsledky a dokazuje funkčnost zoptimalizované a validované metody.

Přestože byla experimentální práce omezena na 2 měsíce, studentka dokázala splnit zadání a nad jeho rámec dokonce proměřila malou kohortu klinických vzorků plazmy 25 pacientů s kolorektálním karcinomem a 25 zdravých kontrol. Získaná data následně statisticky vyhodnotila a neparametrickým testováním bylo určeno 6 statisticky významných lipidů, dysregulovaných u pacientů s rakovinou, což dokazuje biologickou důležitost těchto sloučenin.

Závěry jsou prezentovány přehledně a jasně. Práce je dobrým podkladem pro publikování a další směřování výzkumu.

Vzhledem k výše uvedenému práci doporučuji k ústní obhajobě a navrhuji stupeň hodnocení

A

V Pardubicích, 30.7.2021

Ing. Robert Jirásko, Ph.D.