

Oponentský posudek

doktorské disertační práce Ing. Michaely Kulháňkové

Chromatografická analýza krevních lipidů u diabetiků typu 2

Oponovaná disertační práce byla vypracována jako kvalifikační spis k získání titulu PhD na Katedře biologických a biochemických věd, Fakulta chemicko-technologická, Univerzita Pardubice a na Oddělení klinické Biochemie Fakultní nemocnice Eberhard-Karl-Universität v Tübingenu. Cílem práce bylo provést optimalizaci a validaci chromatografické analýzy pro identifikaci methylesterů mastných kyselin a posoudit využití stanovení obsahu mastných kyselin v jednotlivých frakcích krevní plazmy pro snadnější charakterizaci onemocnění diabetes mellitus 2. typu. Nenasycené mastné kyseliny jsou v poslední době sledovány jako perspektivní markery diabetu, takže z tohoto pohledu je disertační práce Ing. Kulháňkové vysoce aktuální.

Disertační práce má 125 stran a je tvořena

- a) Teoretickou částí, která pojednává o lipidech a jejich složkách: mastných kyselinách (nasycených i nenasycených) a alkoholech (glycerol, sfingosin, inositol a cholesterol). Zvláštní pozornost je věnována lipidům, v nichž jsou esterovou vazbou vázány další složky, jako např. kyselina fosforečná, sírová či neuraminová nebo cukerná složka. Tyto sloučeniny jsou přítomné ve všech buňkách, kde slouží jako materiál pro stavbu membrán buněk a organel. Pozornost je dále věnována úloze lipidů v patofyziologii tukové tkáně, při obezitě, při metabolickém syndromu a při cukrovce..
- b) Experimentální částí, v které jsou popsány metody použité v práci, postupy, instrumentace a způsoby hodnocení,
- c) Výsledkovou a diskusní částí, ve které jsou shrnuty výsledky validace, optimalizace, opakovatelnosti a reprodukovatelnosti zvolené chromatografické metody a jsou diskutovány výsledky vlivu některých faktorů na aktivitu Δ^9 -desaturázy, zastoupení mastných kyselin v lipidových frakcích lipoproteinů a pod.
- d) Přehledem literárních pramenů, ze kterých autorka čerpala. Je jich celkem 100, jsou dobře vybrány s ohledem na řešenou problematiku a zahrnují i práce recentní.

Oponovaná disertační práce přináší řadu nových poznatků, týkajících se zejména změn aktivity Δ^9 -desaturázy v korelaci s faktory ovlivňujícími diabetes mellitus 2. typu. Za závažné považuji zjištění, že na základě kinetických měření aktivity Δ^9 -desaturázy lze odhalit pacienty, kteří mohou být postiženi diabetem, dříve než se objeví ostatní příznaky. Dílčí výsledky disertace autorka publikovala ve třech kolektivních vědeckých člancích v časopisech s IF. Jak zvolené metody, tak i výsledky práce jsou na vysoké vědecké úrovni. Výsledky uvedené v disertaci jsou

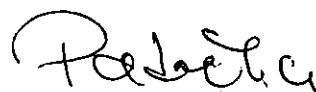
však atomizovány a roztrženy do mnoha grafů a tabulek a diskuse u jednotlivých testovaných látek má sice svou vědeckou hodnotu, ale chybí generální diskuse, která by práci pevně zasadila do kontextu podobných prací a jasně pojmenovala dosažené výsledky a možnosti jejich využití v praxi.

Práce splnila svůj cíl a autorka prokázala svou erudici při práci v laboratoři a schopnost předávání teoretických i praktických poznatků. Vlastní přínos pro teorii vědního oboru a praxi nedokážu však posoudit. Chybí mi pro to validní podklady. Zejména seznam publikovaných prací. Když jsem žádné informace tohoto druhu v diplomové práci nenašel, začal jsem po nich pátrat. Musel jsem podstoupit detektivní práci a protože autorka disertace zatajila své dívčí jméno, hledání jejich publikací se pro mne stalo opravdovým dobrodružstvím.

Chtěl bych proto na závěr svého hodnocení položit Ing. Kulhánkové dvě otázky:

- 1) Kolik prací jste publikovala jako hlavní autor nebo jako spoluautor a v jakých časopisech?
- 2) Vyčerpala jste tím všechny publikovatelné výsledky obsažené ve vaší disertaci?

Závěr: Disertační práce Ing. Michaely Kulhánkové splňuje požadavky kladené na doktorskou disertační práci. Předloženou práci prokázala schopnost tvůrčí práce v oblasti výzkumu a způsobilost k samostatné vědecké práci. Splňuje tak požadavky kladené na doktorskou disertační práci ve smyslu § 47 zákona č. 111/1998 Sb. o VŠ. Doporučuji ji proto přijmout jako podklad k dalšímu řízení ve věci přiznání vědeckého titulu PhD.



Prof. RNDr. Jiří Patočka, DrSc.,
Katedra radiologie, toxikologie a ochrany obyvatelstva,
Zdravotně sociální fakulta
Jihočeské univerzity v Českých Budějovicích
České Budějovice

V Hradci Králové, 20. října 2013



RECAM (O)

Regional Centre
for Applied Molecular
Oncology



EVROPSKÁ UNIE
EVROPSKÝ FOND PRO REGIONÁLNÍ ROZVOJ
INVESTICE DO VAŠÍ BUDOUCNOSTI



Oponentský posudek disertační práce

Univerzita Pardubice, Fakulta chemicko-technologická

Doktorský studijní obor: Analytická chemie

Uchazeč:	Ing. Michaela Kulhánková
Pracoviště:	Katedra Analytické chemie
Název disertační práce:	Chromatografická analýza krevních lipidů u diabetiků typu 2
Školitel:	prof. Ing. Karel Ventura, CSc.
Oponent:	prof. Ing. Lenka Hernychová, Ph.D.
Pracoviště:	Regionální centrum aplikované molekulární onkologie, Masarykův onkologický ústav, Brno

Cílem předložené disertační práce byla optimalizace a validace chromatografické analýzy pro identifikaci methylesterů mastných kyselin a její aplikace na stanovení obsahu mastných kyselin ve frakcích krevní plazmy.

Disertační práce je členěná do pěti hlavních kapitol (úvod, teoretická a experimentální část, výsledky a diskuze, závěr). V úvodní kapitole jsou charakterizovány lipidy a desaturázy, dále je popsáno onemocnění diabetes mellitus a na závěr jsou uvedeny analýzy jednoduchých lipidů v různých typech vzorků. V experimentální části jsou popsány přípravy vzorků a použítá instrumentace. Validace a optimalizace chromatografické metody je uvedena v části Výsledky a diskuze spolu s vlivem mastných kyselin na vybrané enzymy významně ovlivňující onemocnění diabetes mellitus 2. typu. V závěru jsou pak shrnuty všechny výsledky a poznatky získané v disertační práci.

Práce je psaná pečlivě a srozumitelně, v textu se nevyskytují překlepy. Text je doplněn 46 obrázky ilustrujícími popisovaná témata a spolu se 14 tabulkami dokumentují získané výsledky. Další data uvedená ve 29 tabulkách v příloze disertační práce byla



RECAM (C)

Regional Centre
for Applied Molecular
Oncology



EVROPSKÁ UNIE
EVROPSKÝ FOND PRO REGIONÁLNÍ ROZVOJ
INVESTICE DO VAŠÍ BUDOUCNOSTI



OP Výzkum a vývoj
pro inovace

použita pro výpočet meze opakovatelnosti, reprodukovatelnosti a sestrojení dalších závislostí na vybraných veličinách. Jednotlivé kapitoly jsou doplněny 100 literárních odkazů.

Na práci studentky si cením aplikace optimalizovaných postupů na analýzy vzorků pacientů (těžce nemocných diabetiků). Ve studii byly získány nové originální výsledky prokazující poruchy v zastoupení mastných kyselin ve VLDL frakci a změny aktivních indexů enzymového lipidového metabolismu. Z dizertační práce vyplývá, že studentka věnovala mnoho úsilí optimalizaci a validaci uvedených postupů. Z uvedených výsledků lze usuzovat, že cíle dizertační práce byly splněny. Výsledky práce byly prezentovány na tuzemských i zahraničních vědeckých konferencích formou přednášek a posterů a byly uveřejněny ve třech vědeckých časopisech s IF, u kterých je Ing. Michaela Kulhánková (Elcnerová) spoluautorkou.

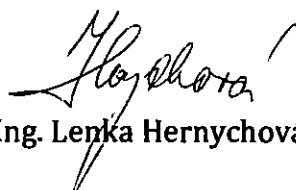
Dotazy oponenta k obhajobě disertační práce

Ve své práci používáte ke stanovení mastných kyselin plynovou chromatografií. Popsala byste další metody, které se používají k těmto stanovením? Zaměřte se na hmotnostní spektrometrii.

Závěr

Předložená práce obsahuje předepsané náležitosti a **splňuje** požadavky kladené na disertační práce v oboru Analytická chemie. Ing. Michaela Kulhánková prokázala způsobilost k samostatné vědecké práci a získala nové originální výsledky. Práci **doporučuji** k obhajobě.

V Brně 11. 11. 2013


prof. Ing. Lenka Hernychová, Ph.D.