

Posudek oponenta diplomové práce

Vyhotovila: **doc. Mgr. Marcela Slováková, Ph.D.**
Autor práce: **Bc. Iveta Kulháňková**
Název práce: **Porovnání metod a postupů přípravy vzorku pro stanovení hladiny glutathionu v lidské krvi získané technikou suché kapky**
Vedoucí práce: **prof. Mgr. Roman Kandár, Ph.D.**

Diplomová práce Bc. Ivety Kulháňkové se zabývá glutathionem (GSH) a porovnáním dvou metod k jeho stanovení ze suché kapky krve (DBS). Těmi jsou separační metoda HPLC s fluorescenční detekcí (FLD) a spektrofotometrická metoda. Teoretická část práce popisuje význam GSH a oxidovaného GSH v lidském těle a zásady pro jeho stanovení a úpravy biologického vzorku před analýzou. Podrobně se zaměřuje na metodu odběru a zpracování biologického materiálu – metodu suché kapky krve. Ta se hojně využívá např. při novorozeneckém screeningu jako neinvazivní metoda ale i v diagnostice infekcí (HIV, cytomegalovirus, hepatitida C). Cílem práce bylo porovnání postupů při přípravě vzorku na hladinu GSH v lidské krvi. Dílčími cíli bylo zjištění vlivu hladiny hematokritu a koncentrace hemoglobinu na hladinu GSH. Praktická část práce popisuje detailní přípravy roztoků, standardů, podmínky analýz. Výsledky a diskuze tvoří 9 tabulek a 10 grafů, a 3 přílohy. Z informací v teoretické části práce jsou cíle práce vhodně podloženy. Výsledky analýz ukazují na schopnost studentky vyhodnocovat získaná data. Výsledky jsou zpravidla diskutovány s jinými autory.

Rozsah diplomové práce splňuje požadavky na typ závěrečné práce (39 stran textu). Členění odpovídá charakteru a významu jednotlivých částí závěrečné práce. Použití literárních a jiných zdrojů je adekvátní (127) a jejich uvedení je vhodně citované. Celkový počet citací vypovídá o dobrém základu literárního přehledu, který je sepsán na 16 stranách. Připomínkou může být stáří některých zdrojů. Např. zdroj 7 z r. 2009 hovoří o „stále se nově objevujících funkcích, které ovlivňují kritické procesy v buňkách“, a podobně zdroj 65 z r. 1994 je v databázích citován novými zdroji, které ho mohly hladce nahradit a rozšířit. Jazyk práce je jasný a srozumitelný, a jen s drobnými gramatickými chybami. Stylistické chyby jsou jen ojedinělé. Grafická úprava odpovídá typu práce. Formální úprava vykazuje určité nesrovnalosti, ty jsou uvedeny dále.

K práci mám tyto komentáře a dotazy:

- V návaznosti na připomínku ke stáří literárních zdrojů **vyhledejte a uveďte** další nově objevené funkce glutathionu v buňce, například v souvislosti s klinickým dopadem.

- **Některé výsledky nebyly prezentovány, může to autorka vysvětlit?** Viz s. 41 dole. V této souvislosti autorka popisuje výsledek analýzy na HPLC-FLD, ale neodkazuje se na přílohu 1, která zřejmě ilustruje tento výsledek.
- Na přílohy práce nejsou v textu žádné odkazy. Podle mého názoru mohly graf a data z příloh vhodněji ilustrovat získané výsledky v kap. 4 výsledky a diskuze.
- Při testování vlivu hematokritu na koncentraci glutathionu v kap. 4.1 na s. 42-44 autorka popisuje kontrolní vzorky krve označené jako QC1-3. O přípravě kontrolních vzorků krve nebyla doposud zmínka, a informace k QC1-3 uvádí autorka až v tabulce 14 na s. 46.
- Dále tamtéž, vliv nanášeného objemu krve na koncentraci GSH nemá vždy stoupající tendenci, a autorka toto hodnotí a diskutuje až o kapitole dál (kap. 4.2). To je mírně matoucí.
- V kap. 4.1.1 na s. 44 zní úvodní informace – „*Hladina hemoglobinu byla stanovena u všech vzorků studie vlivu hematokritu a velikosti nanášeného objemu krve na kvantitativní výsledky.*“ **Můžete vysvětlit obsah kapitoly a význam výsledků?** Z uvedených grafů vyplývá, že stanovené koncentrace hemoglobinu mají se zvyšujícím objemem vzorku krve stoupající tendenci.
- **Jak si vysvětlujete nízkou výtěžnost metody pro stanovení GSH metodou DBS?** Viz kap. 4.4. a tabulka 13.
- V metodické části práce chybí postup a popis analýzy GSH ve vzorcích kapky krve na spektrofluorimetru z kap. 4.7. **Za jakých podmínek probíhalo měření?** Ve výsledkové části chybí odkaz na související přílohu 2. **Je možné, že u vzorků měřených dvěma metodami mohlo dojít k možné ztrátě intenzity fluorescence?**

Přínos této práce má pro praxi jistý potenciál. Byl by jasnější, pokud by autorka vytvořila širší diskuzi získaných výsledků s dalšími autory, kteří by závěry práce mohli podpořit. Závěry z práce jsou tak uvedené a shrnuté až v závěrečné části. Přes uvedené komentáře a dotazy odborná úroveň odpovídá typu závěrečné práce, práce splnila zadání a doporučuji ji k obhajobě. Práci hodnotím stupněm **D**.

doc. Mgr. Marcela Slováková, Ph.D.

V Pardubicích 21.5.2025