

Stanovení asymetrického dimethylargininu v lidské plazmě

Bc. Anna Runčíková

V předložené diplomové práci se studentka pokusila navrhnout a optimalizovat metodu stanovení asymetrického dimethylargininu (ADMA) v lidské plazmě pomocí vysokoúčinné kapalinové chromatografie s elektrochemickou detekcí (HPLC-ED). V úvodu autorka velmi podrobně shrnuje klinický význam ADMA a jeho vztah ke kardiovaskulárním a renálním onemocněním. V dalších kapitolách jsou uvedeny, opět velmi podrobně a s detailním popisem metod, možnosti stanovení ADMA instrumentálními analytickými technikami. Experimentální část byla věnována vývoji metody pro stanovení ADMA a symetrického dimethylargininu (SDMA) po derivatizaci s *o*-ftaldialdehydem a 3-merkaptopropionovou kyselinou, kdy vzniklé reakční produkty jsou mimo jiné také elektroaktivní a lze je po separaci sledovat elektrochemickým detektorem. Diplomantka optimalizovala experimentální podmínky separace a elektrochemické detekce na dvou chromatografických kolonách pro stanovení ADMA a SDMA a ověřovala vliv stability reakčních činidel. Závěrem byly ADMA a SDMA kvantifikovány ve vzorcích metodou vnitřního standardu.

Diplomová práce je sepsána velmi obsáhle, pečlivě a na vysoké úrovni, v textu se prakticky nevyskytují překlepy nebo stylistická zaváhání, což nebývá obvyklé. Zvláště teoretická část snese srovnání s odbornými texty ve vědeckých časopisech. Dovolím si zde vypsát všechny překlepy, které se mi podařilo nalézt: „rovnice Michaelis-Menteové“ (str. 17), „Vzhledem k jednoduchosti a rychlosti provedení prvního postupu...“ (str. 36), „koncentraci“ (str. 52), „ $\text{H}_2\text{NaO}_4\text{P} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ “ (str. 52, hydráty chemikálií se píšou se středovou tečkou bez mezer). Stejně zdatně si diplomantka počínala se zpracováním textu experimentální části. Zde se však naplno projevila pandemická omezení v tomto akademickém roce, kdy studenti nemohli pracovat v laboratořích a provádět experimentální činnost. Je zřejmé, že studentka úspěšně provedla pouze úvodní optimalizaci metody s ohledem na dostatečné rozlišení píků ADMA a SDMA a ověřila možnosti jejich stanovení v modelovém vzorku a vzorku plazmy. Bohužel ale analytická metoda ještě není zcela propracovaná a chybí její finální validace.

K práci mám několik dotazů, které by mohla diplomantka zodpovědět během obhajoby:

- V práci je uvedeno, že byl použit coulometrický režim detekce. Při coulometrii se měří prošlý náboj při nastaveném konstantním potenciálu. Na naměřených chromatogramech je ale na ose y proud, což by svědčilo o amperometrické detekci, kdy se měří proud při konstantním potenciálu. Mohla by diplomantka tento rozpor vysvětlit?
- Byl nějak optimalizován potenciál elektrochemické detekce, který má vliv na intenzitu píků analyzovaných látek? V práci je pouze uvedena konkrétní zvolená hodnota.
- Chromatogramy standardů ADMA a SDMA obsahují ještě další intenzivní píky (Obr. 11 a 12, str. 59 a 60). Dá se říct, o které látky by se mohlo jednat?
- Mohla by změna thiolačního činidla ovlivnit separaci ADMA a SDMA na použité koloně?

V experimentální části je patrné, že zadané téma ještě nebylo zcela dokončeno a výsledky budou sloužit jako důležitý základ pro další výzkum. Závěrem konstatuji, že studentka Bc. Anna Runčíková v rámci možností splnila zadání diplomové práce, kterou **doporučuji k obhajobě** a hodnotím ji stupněm

- C -