

Posudek oponenta diplomové práce

Stanovení symetrického dimethylargininu v lidské plasmě

Základní hodnocení

Studentka při vypracování diplomové práce postupovala dle Zásad pro vypracování diplomové práce a jednotlivé body zadání zdárně splnila.

Teoretická část – úvod do problematiky - je napsána zdařile, čtivě. Studentka v první části popisuje chemickou strukturu a metabolismus symetrického dimethylargininu (SDMA), jeho biosyntézu a degradaci, biologické účinky a vztah k metabolismu oxidu dusnatého. V další části přehledu se studentka věnuje klinickému významu symetrického dimethylargininu jako důležitého metabolitu z hlediska hodnocení renálních funkcí, hodnotí jeho prozánětlivé účinky a popisuje jeho vliv na vznik chronické cévní choroby (aterosklerotické změny) a zmiňuje rovněž jeho roli u koagulopatií, kde prostřednictvím oxidu dusnatého moduluje jak procesy prokoagulační (trombotické), tak i antikoagulační – zvýšení rizika hemorrhagie zejména u pacientů léčených antikoagulační terapií. Studentka v této části přehledu literatury rovněž popisuje běžně užívané i nově vyvíjené a zaváděné analyty, které se mohou uplatňovat při hodnocení a diagnostice akutního i chronického renálního poškození. V další části literárního přehledu jsou popisovány možnosti stanovení symetrického dimethylargininu, zejména separačními chromatografickými metodami, vysokoúčinnou kapalinovou chromatografií s různými modifikacemi způsobu detekce a přípravy vzorku. Popsány jsou rovněž imunochemické a elektromigrační metody. Pozitiva a úskalí těchto metod jsou pečlivě diskutovány. Problémem je zejména čas např. přípravy vzorku, ale i délka a náročnost samotného stanovení, které mohou být překážkou využití analytu v klinické praxi.

Cíl práce je jednoznačně popsán – vypracovat a optimalizovat metodu pro stanovení symetrického dimethylargininu pomocí vysokoúčinné kapalinové chromatografie s elektrochemickou detekcí.

Praktická část – materiál a metody. Studentka popisuje pečlivě použité chemikálie, přístroje a software, vždy se správným uvedením výrobce. Dále popisuje nutné úkony při přípravě vzorku, potřebných zásobních a pracovních roztoků standardních látek, postup derivatizace a dávkování na kolonu, kapalinovou chromatografií s elektrochemickou detekcí, způsob vyhodnocení a provedené výpočty. K analýze byly použity vzorky krve (plasmy) pacientů Pardubické krajské nemocnice, kteří podstoupili perkutánní koronární intervenci a vzorky zdravých dobrovolníků. Užití anonymizovaných vzorků bylo schváleno Etickou komisí při Pardubické krajské nemocnici a.s. K dispozici je rovněž informace pro pacienty a jejich souhlas s účastí ve studii.

Výsledky a diskuse. V této části jsou popsány problémy, které bylo nutné při analýzách řešit, např. tvoření dvojpíků vnitřního standardu a SDMA. Je popsán vliv poměrů derivatizační činidla/směs standardů na rychlost a tedy i kontroverzní (dlouhou) dobu provedení analýzy. Byl rovněž porovnáván vliv různého antikoagulačního činidla (heparin, EDTA) a samotného standardu SDMA. Postupně se úpravou parametrů analýz podařilo

oddělit SDMA od interferujících píků. Studentka uzavírá svou práci přehledem provedených změn a jejich vlivem na průběh analýzy, popisuje výhody a nevýhody použitých postupů.

Závěr. V závěru je konstatováno, že konečná vypracovaná metoda je použitelná i přes komplikace s kolidujícími dvojpíky a upravenou metodou je možné stanovit SDMA

Literatura. Použitá literatura je uvedena dle platné normy a je přiměřeně recentní

Hodnocení práce. Studentka popsal metabolismus, klinický význam a možnosti stanovení symetrického dimethylargininu, dále cíl práce, použitý materiál a metody a řešené problémy, spojené s analýzou biologického materiálu. Úroveň práce snižuje množství překlepů a větných nesrovnalostí. Množství textu, které je „věnováno“ jednotlivým kapitolám není zcela optimální, ale jistě odpovídá míře zkušeností, které studentka s psaním prací tohoto typu může mít.

K předložené diplomové práci připojuji několik dotazů:

- 1) V literárním přehledu je bez bližšího vysvětlení použito (klinické) CHA2DS2 – VASc a HAS BLED skóre. Prosím o vysvětlení podstaty a kontextu použití těchto skórovacích systémů
- 2) Jakým mechanismem mohou ovlivňovat použité stanovení různé antikoagulační látky
- 3) Jakou chromatografickou metodu a způsob detekce SDMA byste zvolila/doporučila pro další možný výzkum kvantitativní analýzy SDMA a proč?

Hodnocení. Z výsledků a celkového hodnocení práce je zřejmé, že případné použití metody v klinické praxi bude vyžadovat řadu dalších studií a analýz. Lze však jednoznačně konstatovat, že Bc. Michaela Hejdrová splnila zadání diplomové práce, kterou **doporučuji k obhajobě** a hodnotím ji stupněm

- B -

V Hradci Králové
22.5.2024

doc. MUDr. Pavel Živný, CSc.
PARDU BICHOVSKÁ NEMOCNICE
Oddělení biochemie a diagnostiky