

# ABSTRAKT

Univerzita Karlova

Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra biochemických věd

**Uchazeč:** Bc. Pavel Prokop, DiS.  
**Školitel:** doc. PharmDr. Iva Boušová, Ph.D.  
**Název diplomové práce:** Analýza argininu a jeho methylovaných derivátů  
v klinických vzorcích metodou LC-MS/MS

Asymetrický dimethylarginin (ADMA) a jeho enantiomer, symetrický dimethylarginin (SDMA), jsou přirozeně se vyskytující aminokyseliny, které vznikají intracelulárně z L-argininu. ADMA je endogenním kompetitivním inhibitorem synthasy oxidu dusnatého. Zvýšené hladiny ADMA a SDMA jsou spojovány s endoteliální dysfunkcí, hypertenzí, kardiovaskulárními a renálními onemocněními. Obě látky se u pacientů s chronickým renálním onemocněním (CKD) hromadí. Cílem této diplomové práce bylo zavedení a validace metody na stanovení L-argininu, ADMA a SDMA v lidské plazmě pomocí ultravysokoúčinné kapalinové chromatografie ve spojení s tandemovou hmotnostní spektrometrií (LC-MS/MS). LC-MS/MS metoda byla následně porovnána s enzymovou imunoanalýzou na imunosorbentech (ELISA) a metodou vysokoúčinné kapalinové chromatografie s fluorescenční detekcí (HPLC-FL). Chromatografická separace probíhala za použití kapalinového chromatografu Dionex UltiMate 3000 UHPLC, následovala hmotnostní detekce na hmotnostním spektrometru amaZon SL. Jako interní standardy byly použity L-arginin-<sup>13</sup>C<sub>6</sub>, ADMA-d<sub>6</sub> a SDMA-d<sub>6</sub>. Příprava vzorku zahrnovala předkolonovou derivatizaci 1-butanolem. Pro kvantifikaci analytů bylo použito monitorování více reakcí (MRM) v pozitivním módu. Zavedená LC-MS/MS metoda vykazovala velmi dobré analytické vlastnosti splňující podmínky pro její validaci a je srovnatelná s dříve publikovanými metodami dalších autorů. Plazmatické hladiny ADMA a SDMA získané LC-MS/MS metodou velmi dobře korelovaly s výsledky získanými pomocí ELISA a HPLC-FL metody. Stanovení plazmatických hladin ADMA a SDMA bylo provedeno ve vzorcích plazmy získaných od zdravých dobrovolníků (n = 40) a pacientů s CKD (n = 40). Hladiny ADMA i SDMA byly u pacientů s CKD signifikantně zvýšeny.