

## ABSTRAKT

V rámci této disertační práce byly vyvinuty a optimalizovány metody kapalinové chromatografie (HPLC) a tandemové hmotnostní spektrometrie (LC-MS/MS) a následně využity pro diagnostiku dědičných metabolických poruch.

První tematický okruh popisuje zavedení komplexního laboratorního postupu pro diagnostiku pacientů s dědičnou xanthinurií využívající kvantifikaci klíčových biochemických markerů a stanovení aktivity enzymu v plazmě. Pro tyto účely byla zavedena HPLC metoda s detekcí diodového pole pro kvantifikaci hypoxanthinu, xanthinu, allopurinolu a oxypurinolu v moči a plazmě a metoda pro stanovení pterinu a isoxanthopterinu v plazmě využívající HPLC separaci a detekci látek fluorimetrickým detektorem. Tyto metody byly úspěšně aplikovány v klinické praxi při diagnostice dvou pacientů s xanthinurií I. typu.

Druhý tematický okruh je věnován vývoji a klinické aplikaci LC-MS/MS metody pro kvantitativní stanovení celkového homocysteinu (tHcy), methioninu (Met) a cystathioninu (Cysta) v suché krevní kapce a plazmě. Bylo prokázáno, že tato metoda dokáže detekovat pacienty s homocystinurií a zároveň rozlišit na základě koncentračních poměrů jednotlivých analytů, zda je porucha v transsulfurační či remethylační části metabolismu homocysteinu. Díky jednoduchému odběru a transportu vzorku suché krevní kapky je tato metoda také vhodná pro monitoring koncentrací tHcy a Met u již diagnostikovaných pacientů v rámci sledování dietní kompenzace. Zároveň může být ideálním nástrojem pro rychlou detekci pacientů s hyperhomocysteinemií v rámci novorozeneckého screeningu, který využívá suchou krevní kapku pro vyhledávání poruch metabolismu methioninu. Během studie byla také získána data o koncentracích cystathioninu v suché krevní kapce, která nebyla dosud publikována.