

ABSTRAKT

Univerzita Karlova v Praze, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra analytické chemie

Kandidát: Mgr. Jiří Plíšek

Školitel: prof. RNDr. Petr Solich, CSc.

Školitel specialista: doc. RNDr. Dagmar Solichová, Ph.D.

Název disertační práce: Využití separačních metod v klinickém výzkumu

Disertační práce se zabývá vývojem a validací nových LC metod pro stanovení biologicky aktivních látek, zejména liposolubilních vitaminů (vitamin A, E, D) a jejich metabolitů. Vitaminy patří mezi nezbytné esenciální mikronutrienty, které lidský organismus není schopen syntetizovat s výjimkou steroidního hormonálního prekurzoru vitaminu D. V organismu vitaminy zasahují do řady biochemických reakcí buď přímo, nebo jako koenzymy. Zájem o klinické monitorování těchto látek se v posledních letech dostává stále více do popředí.

Z důvodu velmi nízkých sérových koncentrací metabolitů vitaminu D (25-hydroxy vitaminu D₃ a 25-hydroxy vitaminu D₂) je třeba pro stanovení využít moderních instrumentálních technik, mezi které patří i spojení ultra-vysokoučinné kapalinové chromatografie s tandemovou hmotnostní detekcí. V případě sledování hladin vitaminů A (retinol) a E (α-tokoferol) v mateřském mléce a vitaminu E (α-tokoferol) v erytrocytárních membránách je vhodné využití klasické kapalinové chromatografie s detekcí diodového pole. Vzhledem k tomu, že předmětem zájmu jsou složité biologické matrice, je třeba do procesu zpracování zařadit přípravu vzorku před vlastní analýzou. Tato fáze je pro samotné stanovení analytů stěžejní, neboť má přímý vliv na úspěšnost celé analýzy a současně její kvalitní a správné provedení pozitivně ovlivní životnost instrumentálního systému. Disertační práce tedy zahrnuje komplexní pohled na průběh vyšetření, tzn. od odebrání, skladování a přípravy vzorku v rámci fáze preanalytické, přes fázi analytickou, až po zpracování a interpretaci výsledků ve fázi postanalytické.

Po praktické stránce je práce rozdělena do čtyř tematických okruhů. První dva obsahují stanovení retinolu a α-tokoferolu v lidském mateřském mléce s využitím monolitických kolon a kolon s povrchově porézními částicemi. V rámci optimalizace a validace metody je popsáno vzájemné porovnání těchto kolon, jejich výhody a nevýhody. Další okruh se zabývá analýzou a klinickým monitorováním 25-hydroxy vitaminu D₃ a 25-hydroxy vitaminu D₂ pomocí systému UHPLC s tandemovou hmotnostní spektrometrií. Poslední práce popisuje přednosti spojení ultracentrifugace a extrakce na

pevné fázi s následnou chromatografickou analýzou α -tokoferolu v membráně lidských erytrocytů.

Všechny uvedené metodiky byly vyvinuty a validovány ve Výzkumné laboratoři III. interní gerontometabolické kliniky ve Fakultní nemocnici Hradec Králové a úspěšně publikovány v renomovaných analyticky orientovaných mezinárodních časopisech s impakt faktorem.