

ABSTRAKT

Univerzita Karlova, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra analytické chemie

Kandidát: Mgr. Eva Kasalová

Školitel: prof. RNDr. Petr Solich, CSc.

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

Název disertační práce: Moderní separační techniky pro analýzu biologického materiálu v klinickém výzkumu

Předkládaná disertační práce se zabývá vývojem chromatografického stanovení lipofilních vitaminů a úpravou vzorku biologického materiálu před vlastní analýzou. Klinické monitorování hladin těchto vitaminů, zvláště pak vitaminu D, v různých biologických matricích je v posledním desetiletí velmi diskutovaným tématem.

V teoretické části této disertační práce jsou charakterizovány cílové analyty – vitaminy A, E, D s jejich biologickou aktivitou – dále pak biologický materiál používaný ve Výzkumné laboratoři, zvláště pak podrobný popis složení mateřského mléka, jeho nezastupitelná role ve výživě novorozenců a zpracování mateřského mléka v mléčné bance. Na tuto část navazuje obsáhlá kapitola věnující se úpravě biologické matrice před analýzou. Jsou zde popsány nejčastěji používané techniky úpravy vzorku, jako jsou extrakční metody, velká pozornost je věnována novým trendům v těchto metodách, které se rozvíjejí v posledních letech. Teoretickou část uzavírá problematika analytického stanovení pomocí separačních chromatografických metod s důrazem na HPLC a UHPLC.

Důležitou součástí této disertační práce je vypracovaná rešeršní publikace zabývající se stanovením vitaminu D a jeho metabolitů v mateřském a kravském mléce. Jsou zde diskutovány okruhy od významu vitaminu D a jeho metabolismu přes preanalytické úpravy mléka až k analytickému stanovení s využitím moderních instrumentálních technik.

Experimentální část je rozdělena do dvou tématických okruhů. První okruh se zabývá úpravou biologické matrice - sérum a mateřské mléko - a vývojem chromatografických metod. Jako první je popsána vyvinutá a publikovaná UHPLC-MS/MS metoda pro stanovení 25-hydroxy derivátů vitaminu D v lidském séru s jednoduchou úpravou vzorku vhodnou

k rutinnímu využití. Druhá metoda se zabývá vývojem vhodného extrakčního postupu vitamínu D z mateřského mléka k následné chromatografické analýze s MS detekcí.

Další část disertační práce se věnuje analytickému stanovení lipofilních vitaminů A, E, D, zánětlivých markerů neopterinu, kynureninu, tryptofanu a jejich aplikacím v medicíně. Je zde komentována studie prováděná ve spolupráci s Tkáňovou bankou, kdy byla sledována stabilita retinolu a α -tokoferolu v mateřském mléce během pasterizace a skladování. Další studie se věnují změnám antioxidační kapacity při léčbě věkem podmíněné makulární degenerace a familiární hypercholesterolemie. Posledním okruhem je studium neopterinu jako prediktivního markeru u onkologicky nemocných pacientů ve spolupráci s FN Olomouc.