

## Oponentský posudek diplomové práce

**Bc. Lenka Portychová:**

### **„Optimalizace metody pro stanovení látek typu katecholaminů“**

Cílem předložené diplomové práce bylo optimalizovat analytickou metodu pro stanovení látek ze skupiny katecholaminů.

Teoretická část je systematicky rozdělena do kapitol, ze kterých získá čtenář ucelený přehled o sledovaných látkách, důvodu pro jejich stanovení a využití v praxi.

Jsou zde popsány jednotlivé katecholaminy, včetně jejich metabolitů. Dále je zmíněn metabolismus těchto látek, jejich výskyt a možnosti stanovení. Důvodem pro stanovení látek typu katecholaminů, uvedeným v této práci, je zjištěná souvislost mezi vysokým obsahem těchto látek v lidském organismu a výskytem nádorů dřeně nadledvin, nejčastěji feochromocytomu. Samostatná kapitola je proto také věnována nádoru feochromocytomu a jeho schopnosti syntetizovat, shromažďovat, uvolňovat a metabolizovat stanovované látky.

V praktické části jsou přehledně popsány jednotlivé kroky optimalizace metody stanovení metanefrinu, normetanefrinu a 3-methoxytyraminu v lidské plazmě kapalinovou chromatografií s elektrochemickou detekcí. Testovanými detektory byly CoulArray a Coulochem III. Pro veškerá kvantitativní vyhodnocení analytů byla použita metoda vnitřního standardu. Tím je zajištěna porovnatelnost výsledků.

Chromatografické separaci vzorku plazmy předcházela extrakce tuhou fází, která byla rovněž optimalizována. Účelem bylo získání co nejvyšší výtěžnosti a odstranění interferujících látek z plazmy. V rámci extrakce byla odzkoušena řada činidel a různé typy kolonek založených především na iontové výměně.

Separční i detekční podmínky byly upravovány s cílem dosáhnout přesného, rychlého a rovněž ekonomického stanovení vybraných metabolitů katecholaminů v plazmě.

### **K předložené práci mám následující dotazy a náměty k diskusi:**

1. Na str. 21 teoretické části je uvedeno, že je vzhledem k diagnostice feochromocytomu vhodnější stanovovat O-methyl metabolity katecholaminů, metanefriny. Mohla byste vysvětlit z jakého důvodu?
2. Na str. 22 je zmíněno, že nejpoužívanější metodou pro stanovení látek typu katecholaminů je kapalinová chromatografie iontových párů ve spojení s elektrochemickou detekcí. Proč se domníváte, že je právě tato metoda preferována před ostatními analytickými metodami, které také uvádíte?
3. Na str. 25 je uvedeno, že komerčně dodávané kolonky pro stanovení metanefrinů jsou většinou založeny na iontové výměně. Proč je možné použít tento typ kolonek?
4. Str. 52, obrázek 16 ve výsledkové části:  
Z obrázku vyplývá, při jakém potenciálu nastaveném na celách je dosaženo nejvyšší odezvy. Proč tedy, i při následujícím experimentu věnovaném optimalizaci koncentrace acetonitrilu v mobilní fázi, bylo měřeno při všech testovaných potenciálech?
5. Str. 54:  
Při jakém napětí byla měřena optimalizace mobilní fáze pro kapalinovou chromatografii?
6. Str. 57:  
Jakým způsobem byly vybrány chromatografické kolony pro HPLC stanovení?
7. Při testování výtěžnosti metanefrinů na SPE kolonkách uvádíte výtěžnost vzhledem k vnitřnímu standardu. Počítala jste rovněž výtěžnost absolutní a jak se lišila?

### **Shrnutí:**

Diplomová práce je srozumitelně a přehledně sepsána. Dané téma je rozpracováno podrobně, metodicky správně a cíl práce byl splněn. Použité přístupy řešení problémů jsou odpovídající a nelze nic namítat ani proti interpretaci výsledků. Veškerá použitá literatura byla dle mého názoru řádně citována (147 citací).

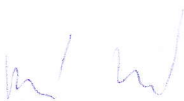
Téma předkládané práce patří k aktuálním a pro potřeby praxe efektivně využitelným. Stanovení tohoto typu látek je velmi přínosné z diagnostického hlediska.

Rozsah předložené práce považuji spíše za nadstandardní, s velmi obsáhlým výčtem použité literatury.

Podle mého názoru, Bc. Lenka Portychová splnila všechny předpoklady pro úspěšné přijetí diplomové práce. Z výše zmíněných důvodů doporučuji tuto diplomovou práci k obhajobě a hodnotím známkou

**Výborně**

V Praze, dne 27. 5. 2013



.....  
RNDr. Alice Brabcová Vránková, Ph.D.

Laboratoře LEM ÚLBLD-VFN a III.interní klinika 1.LF UK v Praze