

Diplomová práce: **Optimalizace preanalytické fáze při fluorimetrickém stanovení glutathionu**

Autor: Bc. Zuzana Chmátalová

Vedoucí diplomové práce: RNDr. Tomáš Roušar, Ph.D.

Glutathion je nejdůležitější hydrofilní, nebílkovinný, intracelulární antioxidant. S ohledem na jeho účast v mnoha procesech je znalost jeho hladin zcela zásadní. Proto je i v praxi pro jeho stanovení používána celá řada metod. Vzhledem k jeho snadné oxidaci je ale také nutné zajistit správné preanalytické zpracování biologického materiálu tak, aby byly zachovány jeho skutečné hladiny. Právě touto problematikou se zabývala předkládaná diplomová práce.

Hlavním cílem laboratorní práce diplomantky bylo zjistit, do jaké míry mohou být výsledné stanovené hladiny glutathionu ovlivněny druhem, popř. silou deproteinačního činidla, a také podmínkami skladování biologického materiálu. K tomuto účelu studentka testovala změny koncentrací glutathionu v homogenátu potkaní jaterní tkáně, která je obecně považována jako jedna z nejsložitějších s ohledem na biologickou matici. Autorka v práci popisuje výsledky pocházející z testování nejčastěji používaných kyselin – trichloroctové, meta-fosforečné a sulfosalicylové, při nichž zjistila, že koncentrace i druh kyseliny významným způsobem ovlivňuje naměřené hodnoty koncentrací. Neméně důležitým výstupem předkládané práce je také průkaz velmi rychlého rozkladu redukovaného glutathionu v jaterním homogenátu při nesprávném a dlouhém skladování. Toto může být jeden z hlavních problémů například při nutnosti současného zpracování mnoha vzorků v jednom časovém intervalu.

Při řešení diplomové práce se diplomantka nejprve seznámila s principem spektrofluorimetrického stanovení glutathionu a s postupy zpracování biologického materiálu. Následně studentka testovala různé roztoky kyselin a po deproteinaci kromě stanovení hladin glutathionu měřila také koncentrace zbytkových proteinů. Po počátečních problémech se zavedením metod diplomantka již během dalších experimentů pracovala přesně a odpovědně, a výsledky, ke kterým dospěla, vhodně interpretovala. Diplomová práce je členěna dle obvyklého schématu, rozsah je dostatečný, text je sepsán přehledně, srozumitelně, koncisně a je přiměřeně doplněn obrázky, grafy, tabulkami a citacemi. Citace pocházejí převážně z recentních zahraničních článků, v porovnání k nimž diplomantka své výsledky i detailně diskutuje.

Diplomová práce Bc. Zuzany Chmátalové splňuje všechny původně kladené cíle, celkově ji považuji za zdařilou a **doporučuji ji k obhajobě.**

Závěrečné hodnocení: **výborně**

V Pardubicích 24.5.2012

  
RNDr. Tomáš Roušar, Ph.D.