

Oponentský posudek na diplomovou práci

Název diplomové práce: *Glutathionreduktasa – stanovení aktivity a možnosti její modulaace*
Autorka diplomové práce: **Bc. Erika Nýdlová**

Hlavním cílem předložené diplomové práce byla optimalizace spektrofotometrického stanovení aktivity glutathionreduktázy. Autorka se soustředila především na zjištění vlivu pH, teploty, tepelné stability a koncentrace substrátů na přesnost stanovení aktivity tohoto enzymu. Dalším úkolem bylo využít optimalizovanou metodu ke stanovení aktivity enzymu v buněčných lyzátech získaných z potkaních hepatocytů. V poslední části práce byly testovány látky inhibující aktivitu glutathionreduktázy. Téma diplomové práce je vysoce aktuální vzhledem ke klíčové roli enzymu při redukcí oxidovaného glutathionu.

Práce má 82 stran včetně 13 obrázků, 13 tabulek, 15 grafů, 11 příloh a seznamu literatury (66 citací). Práce je klasicky členěna, v teoretické části podává autorka na 38 stranách základní informace o glutathionu, jeho funkcích, metabolismu glutathionu včetně enzymů odpovědných za jeho metabolismus. Podrobněji se autorka věnovala glutathionreduktáze s ohledem nejen na strukturu enzymu a jeho katalytický cyklus, ale také možnosti farmakologické inhibice a metody stanovení glutathionreduktázy. Experimentální část je přehledně a dostatečně podrobně zpracována tak, aby mohla sloužit jako metodický návod k prováděným měřením. Výsledky jsou dobře dokumentovány a jasně popsány. Diskuse k získaným výsledkům je adekvátní a potvrzuje, že autorka je dobře orientována v dané problematice. Diplomová práce je psána velmi dobrou češtinou a jak po odborné, tak i po formální stránce jednoznačně odpovídá požadavkům kladeným na diplomové práce.

K práci mám následující připomínky a dotazy:

1. Připomínky závažnějšího charakteru:

- a) nikde v diplomové práci jsem nenašla kapitolu nebo alespoň odstavec obsahující cíle práce, předmět studia je sice uveden v odstavci „Zásady pro vypracování“ na úvodní straně nazvané Zadání diplomové práce. Nicméně, jsem přesvědčena, že cíle práce musí být uvedeny i v textu diplomové práce
- b) v práci postrádám údaje o statistickém hodnocení získaných dat. V grafech není uvedena statistická významnost. Navíc v grafech postrádám popis, co jednotlivé hodnoty představují. Předpokládám, že se jedná o průměry a směrodatné odchylky, to ale musí být v každé legendě ke grafu uvedeno.
- c) v části pokusů, které byly provedeny na potkaních hepatocytech, chybí údaje o pokusných zvířatech (kmen, pohlaví, stáří, způsob chovu) a především informace o tom, že projekt pokusů byl schválen příslušnou Odbornou komisí pro ochranu zvířat.

2. Připomínky formálního charakteru:

- a) str. 14., 3. řádek nad obrázkem č. 1 – *γ-glutamylcyklotransferasy* nahradit *γ-glutamylcyklotransferasou*
- b) str. 16., 2. odstavec, poslední věta – *Laplowitz* nahr. *Kaplowitz*
- c) str. 26. – *Escherichia Coli*, *Plasmodium Falciparum* – rodová jména píšeme obvykle s velkým písmenem, zatímco druhová s malým písmenem (*Escherichia coli*)

- d) str. 30., kap. 2.3.4. – 1. odstavec - ...látky, které mohou být využity při léčbě proti parazitickým onemocněním ..., léčbě proti malárii – doporučuji nahradit léčbě parazitických onemocnění, léčbě malárie
- e) str. 49., drobný překlep je v rovnici č. 7: *koncentrac e* nahr. *koncentrace*
- f) str. 66., *nejoptimálnější* – považuji za nesprávný termín, optimální je samo o sobě superlativem
- g) za nevhodné považuji opakující se termíny typu *rozaliquotovat*, rovněž název *blanky* – doporučuji nahradit termínem *slepé vzorky*

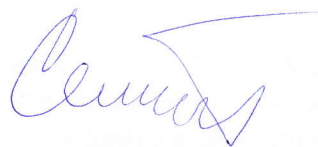
3. Dotazy:

- a) při testování vlivu pH na spektrofotometrické stanovení aktivity glutathionreduktázy jste volili draselný fosfátový pufr. Nikde jsem nenašla vysvětlení, proč jste zvolili právě tento pufr a nikoliv častěji používaný sodný fosfátový pufr. Prosím o vysvětlení.
- b) překvapivé je zjištění, že N-ethymaleimid nevede ve vašem pokusném uspořádání k inhibici glutathionreduktázy, což jste prokázali jak v případě purifikované kvasinkové glutathionreduktázy, tak i v případě glutathionreduktázy z lyzátů potkaních hepatocytů. Tento nálezn je v rozporu s nálezy jiných autorů. Jak tento rozpor s literárními údaji vysvětlujete?

Přes výše uvedené připomínky konstatuji, že se jedná o velmi kvalitní diplomovou práci, která přináší nové důležité poznatky a otevírá nové otázky, na které bude nutné hledat odpověď.

Závěrečné hodnocení: výborně

V Hradci Králové 23. května 2011



Prof. MUDr. Zuzana Červinková, CSc.