

Diplomová práce: **Glutathionreduktasa – stanovení aktivity a možnosti její modulace**

Autor: Bc. Erika N ý d l o v á

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

Předložená diplomová práce je zaměřena na optimalizaci stanovení aktivity jedinečného nitro-buněčného enzymu – *glutathionreduktasy*, a popis její inhibice. Tento enzym má nezastupitelnou úlohu v buněčném metabolismu, protože je jako jediný schopen v organismu zpětně redukovat důležitý antioxidant, glutathion. Znalost její aktivity je tedy pro správnou charakterizaci oxidačně-/antioxidačního stavu buněk velmi důležitá.

Autorka v práci shrnuje své výsledky z optimalizace celého stanovení, kdy se zabývala testováním vlivu řady parametrů metody na stanovení (koncentrace substrátů, pH pufru, skladování). Po zjištění optimálních podmínek diplomantka v souladu se stanovenými cíli určila aktivitu glutathionreduktasy v homogenátu potkaních jater. Nakonec se zaměřila na testování inhibice glutathionreduktasy v přítomnosti čtyř látek – diethylmaleátu, N-ethylmaleimidu, ethakrynové kyseliny a také glutathionu. Tyto inhibitory byly vybrány s ohledem na v odborné literatuře publikované údaje a cílem bylo vzájemné srovnání míry inhibice u každého z nich. Nejzajímavějšími zjištěními, ke kterým autorka dospěla, jsou nález značné inhibice glutathionreduktasy v přítomnosti redukováného glutathionu a naopak neschopnost N-ethylmaleimidu a diethylmaleátu tento enzym inhibovat. Tyto závěry jsou velmi překvapivé, ale zároveň lze s jejich pomocí vysvětlit některé dosud sporné údaje vyskytující se ve vědeckých publikacích, jako je např. neschopnost diethylmaleátu způsobit smrt buněk jen díky depleci glutathionu.

Při řešení diplomové práce se diplomantka nejprve detailně seznámila s problematikou metabolismu glutathionu a také s obecnými principy enzymových stanovení. Během dalšího řešení daných laboratorních úkolů pracovala zcela samostatně, přesně a pečlivě (jak lze usuzovat např. z kalibrace stanovení proteinů). Kromě toho je vhodné zmínit aktivní přístup k plánování experimentů a zároveň bezchybné zpracování získaných dat. Jak již bylo zmíněno, dosažené výsledky jsou velmi zajímavé a budou sloužit jako podklad pro publikaci v recenzovaném bioanalytickém časopisu a stejně tak v dalším studiu této problematiky v rámci PGS studia autorky.

Práce je členěna dle klasického schématu, rozsah je dostatečný, text je sepsaný velmi přehledně a je vhodně doplněn obrázky, grafy, tabulkami a citacemi. Tyto citace pocházejí převážně z recentních zahraničních článků, v porovnání k nimž i diplomantka své výsledky diskutuje.

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

Závěrečné hodnocení: **výborně**

V Pardubicích 24.5.2011



RNDr. Tomáš Roušar, Ph.D.