

Oponentský posudek na diplomovou práci

Název diplomové práce: *Glutamátdehydrogenáza – marker hepatotoxicity*

Autorka diplomové práce: **Bc. Martina Víšová**

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

Hlavním cílem předložené diplomové práce byla optimalizace spektrofotometrického stanovení aktivity glutamátdehydrogenázy. Sérová aktivita glutamátdehydrogenázy (GLDH) je považována za důležitý marker jaterního poškození. Autorka se soustředila na testování různých parametrů metody – vliv pH, použitého pufru, koncentrace NADH, koncentrace α -ketoglutarátu, způsobu a doby skladování vzorků. Dalším, značně ambiciózním úkolem bylo využít optimalizovanou metodu na stanovení GLDH ve vzorcích sér potkanů s jaterním poškozením, porovnat hodnoty s dalšími markery poškození jater a vyhodnotit vhodnost použití aktivity GLDH.

Diplomová práce má 73 stran včetně 7 obrázků, 11 tabulek, 13 grafů, 11 příloh a seznamu literatury (69 literárních odkazů). Práce je klasicky členěna, v teoretické části podává autorka na 21 stranách základní informace o játrech, vybraných hepatotoxických látkách, enzymových markerech jaterního poškození a především o glutamátdehydrogenáze. Dobře je zpracovaná část týkající se GLDH, výhrady mám k části týkající se jater. Informace k této kapitole čerpala autorka především z učebnice anatomie a např. kapitola 2.1.1. pojednávající o funkcích jater je velmi povrchní. Rovněž část věnovaná anatomii jater vychází z anatomického pohledu na základní stavební jednotku jater, i když s ohledem na zaměření práce bych doporučovala zmínit funkční pohled na základní jaterní strukturu. S tím souvisí i popis toxického poškození jater, které autorka dělí na akutní a chronické, příhodnější by bylo dělit poškození s ohledem na zonální uspořádání jater na centrilobulární, periportální a difúzní. Ne zcela jasný mně je i výběr látek s hepatotoxickým účinkem, které jsou v přehledu uvedeny. Acetaminofen je s ohledem na vlastní práci v literárním přehledu správně uveden, ale dalšími nejčastěji používanými látkami pro modelové toxické poškození jater jsou tetrachlormetan a D-galaktosamin, ty nejsou v práci zmíněny a je tam zařazen thioacetamid. Co vedlo autorku k tomuto výběru? Cíle práce jsou jasně definovány. Experimentální část je přehledně a dostatečně podrobně zpracována tak, aby mohla sloužit jako metodický návod k prováděným měřením. Výsledky týkající se optimalizace stanovení aktivity GLDH jsou dobře dokumentovány a jasně popsány. Diplomová práce je psána velmi dobrou češtinou a jak po odborné, tak i po formální stránce odpovídá požadavkům kladeným na diplomové práce.

K práci mám následující připomínky a dotazy:

1. Připomínky závažnějšího charakteru:

- a) Za nejzávažnější chybu práce považuji výběr sér potkanů s jaterním poškozením. Jsem si vědoma, že autorka je v tomto ohledu závislá na jiném pracovišti, nicméně výběru skupin měla být věnována větší pozornost. Hlavní problém spočívá v absenci kontrolní skupiny, k testování vhodnosti stanovení aktivity GLDH byla použita séra čtyř skupin potkanů, potkani všech skupin dostali 4 dávky acetaminofenu, dvě z těchto skupin byly podrobeny navíc parciální hepatektomii (PH), která sama vede k signifikantnímu vzestupu aktivity GLDH. Výsledky v tabulce XI dokumentují vysoce významný vzestup aktivity GLDH po PH ve srovnání se skupinami, kterým byla provedena laparotomie. Zavádějící je i legenda k tabulce XI „Průměrné hodnoty aktivit enzymů po intoxikaci acetaminofenem“. Mnohem významnějším faktorem je PH, o níž není v legendě ani zmínka. S tím

souvisí i nesprávný závěr vyjádřený na základě předložených výsledků, a to závěr o vhodnosti glutamátdehydrogenázy jako vhodného markeru hepatotoxicity (aplikace hepatotoxické látky měla na aktivitu GLDH mnohem menší dopad než parciální hepatektomie). Je-li pravdou tvrzení uvedené na str.53, že fyziologická hodnota aktivity GLDH se pohybuje v rozmezí 0 - 2,2 mU/ml, pak podání 4 dávek acetaminofenu k vzestupu aktivity nevedlo.

- b) Další velký problém vidím v uvedených jednotkách aktivit enzymů. ALT, AST a ALP byly stanovovány na ÚKBD FN v Hradci Králové a hodnoty byly vyjádřeny v $\mu\text{kat/l}$. V práci není uvedeno, jak autorka převedla výsledky na mU/ml.
- c) V grafech a tabulkách není uvedena statistická významnost.

2. Připomínky formálního charakteru:

- a) str. 17, kapitola 2.1.2.3 – chybí citace literárního pramene
- b) str. 26., řádek 7 – *..slouží k diferenciaci jaterních onemocnění nahr. slouží k diferenciální diagnostice jaterních onemocnění*

3. Dotazy:

- a) na straně 35 uvádíte, že „porovnáním biomarkerů akutního hepatotoxického poškození bylo zjištěno, že nejvíce senzitivní marker je glutamátdehydrogenáza“. Na stejné straně jsou uvedeny výsledky O'Briena a spol., kteří zaznamenali 205 x zvýšení aktivity GLDH za 24 hodin po PH. Zbylé hepatocyty po PH nejsou významně poškozené, jak si vysvětlujete tak dramatický vzestup aktivity GLDH?

Přes výše uvedené připomínky konstatuji, že především analytická část diplomové práce byla velmi dobře zpracovaná, splnila deklarované cíle a odpověděla na zadané otázky. Diplomovou práci Bc. Martiny Víšové doporučuji k obhajobě.

Závěrečné hodnocení: velmi dobře



V Hradci Králové 27. května 2012

Prof. MUDr. Zuzana Červinková, CSc.