

## OPONENTSKÝ POSUDEK

Název práce: **Stanovení aktivity laktátdehydrogenázy jako markeru cytotoxicity**

Autor diplomové práce: **Bc. Lucie Zbořilová**

Oponent: **Mgr. Šárka Štěpánková, Ph.D.**

Diplomová práce Bc. Lucie Zbořilové je zaměřena na optimalizaci stanovení aktivity laktátdehydrogenázy v hepatocytárním lyzátu a testování nefrotoxického vlivu acetaminofenu na HK-2 buňky pomocí stanovení aktivity laktátdehydrogenázy.

Text diplomové práce je standardně členěn do kapitol: úvod, teoretická část, cíl práce, experimentální část, výsledky, diskuze a závěr.

V teoretické části se autorka zaměřuje na popis funkce, struktury a výskyt laktátdehydrogenázy v organismu. Další kapitoly jsou věnovány metodám separace laktátdehydrogenázy, testům cytotoxicity a mechanismu účinku a toxicitě paracetamolu. Text je doplněn obrázky.

Cílem předložené diplomové práce byla optimalizace stanovení aktivity laktátdehydrogenázy a porovnání optimalizovaného roztoku s komerčně dostupnou sadou pro stanovení aktivity laktátdehydrogenázy.

V experimentální části je podrobně popsána optimalizace stanovení. Byly optimalizovány koncentrace Goodova pufru, pyruvátu, NADH a typ pufru (byly testovány tři typy pufru: sodno-fosfátový, draselno-fosfátový a TRIS). Následně je popsána metoda stanovení koncentrace proteinů a metoda stanovení aktivity enzymu. Součástí práce bylo také hodnocení nefrotoxického vlivu acetaminofenu.

Ve výsledkové části jsou přehledně v tabulkách a grafech uvedeny získané výsledky, ze kterých vyplývá, že optimalizované roztoky mohou být použity pro stanovení aktivity laktátdehydrogenázy a testování buněčné toxicity *in vitro*, přičemž výsledky jsou srovnatelné s výsledky získanými pomocí komerční sady roztoků.

Přehled použité literatury svědčí o dobré teoretické přípravě. Autorka pro zpracování diplomové práce použila celkem 60 literárních zdrojů, převážně zahraničních.

K předložené diplomové práci mám následující připomínky a dotazy:

Při zpracování diplomové práce se studentka nevyvarovala některých formálních nedostatků. V práci je několik překlepů, obrázky jsou zařazeny bez toho, aby na ně odkazoval předchozí text, v názvech chemických sloučenin by písmena jako N, p měla být kurzívou (např. *N*-acetyl-*p*-fenetidin – str. 31).

Dotazy:

1. Vzhledem k tomu, že je experimentální a výsledková část psaná v plurálu, chtěla bych se zeptat, co všechno studentka dělala sama? Např. zpracovávala studentka sama tkáň potkaních jater (str. 43)?
2. Proč byly zvoleny pro stanovení aktivity laktátdehydrogenázy časové intervaly 4, 20, 24h?
3. Jak je možné vysvětlit snížení aktivity laktátdehydrogenázy při použití sodno-fosfátového pufru oproti draselno-fosfátovému pufru téměř o polovinu?
4. Proč při testování vlivu teploty (0 °C) na aktivitu enzymu byl enzym skladován mezi 4. a 20. hodinou při 4 °C?

Závěrem konstatuji, že práce splňuje zadání, obsahuje všechny náležitosti a i přes výše uvedené připomínky má po stránce obsahové i formální velmi dobrou úroveň.

Z uvedených důvodů **doporučuji** diplomovou práci k obhajobě a hodnotím známkou **výborně-m.**

V Pardubicích 15. 5. 2015

  
Mgr. Šárka Štěpánková, Ph.D.