

Téma diplomové práce	Oxidativní poškození DNA a jeho vztah k cytotoxickému účinku.
Jméno studenta, studentky	Hana Bláhová
Jméno oponenta	RNDr Zdeňka Polívková

II. Posudek oponenta

Práce má 66 stran včetně vyobrazení a sedmi grafů umístěných v textu výsledkové části.

V úvodní teoretické části autorka podává povšechnou informaci o problematice výskytu nádorů v České republice a dále se podrobně věnuje popisu vzniku radikálů a oxidačních procesů probíhajících v buňce. Jsou popsány i mechanismy účinku antioxidantů.

V úvodu práce autorka popisuje též princip metod stanovení oxidativního poškození DNA. Navazuje podrobnější a obrazově dokumentovaný přehled základních mechanismů opravy DNA, počínaje nukleotidovou excisní reparací, dále báзовou reparací a opravou chybného párování bází.

Praktická část obsahuje podrobný popis použité metody kometového testu, a to včetně výčtu chemikálií a složení roztoků. Podrobně je rozepsán i postup stanovení zlomů DNA kometovým testem.

Ve výsledkové části autorka podává podrobný popis výsledků experimentů. Nejprve autorka stanovila dávkovou odezvu indukce zlomů DNA peroxidem vodíku, a potom také počet oxidovaných bází, stanovených pomocí enzymů ENDO III a FAPY glykoxylázou a jejich opravu během 30 min. reparace.

Kinetika opravy oxidovaných bází DNA byla porovnána u normálních buněk čínského křečička linie AA8 a u mutančních buněk UV-20, které mají defekt v nukleotidové excisní reparaci. Oxidativní poškození bylo opravováno u buněk obojího typu stejně, takže nukleotidová excisní reparace, nehraje patrně v opravě oxidativního poškození DNA podstatnou roli, jak uzavírá autorka. Pokud bylo oxidativní poškození DNA potlačeno ovlivněním buněk epigalokatechingalátem ještě před působením H₂O₂, snížil se významně i cytotoxický účinek H₂O₂.

Autorka zvládla náročné techniky kultivace savčích buněk a metodiku stanovení poškození DNA kometovým testem. Práce přinesla zajímavé výsledky, nové především ve zjištění vlivu EGCG na cytotoxicitu H₂O₂. Autorka prokázala schopnost práce s literaturou zejména v úvodu. V diskusi postrádám poněkud širší začlenění získaných výsledků do kontextu s literárními údaji.

Jinak nermám k práci připomínek, vyjma překlepů a některých drobných nedostatků. Na př. některé výrazy spíše z oblasti vědu popularizující literatury, jako na př. na str 13 (1.řádek) ... elektron útočí na buňku jako raketa..... by se neměly v práci tohoto typu používat.

Mám na autorku jeden dotaz: Jak si autorka vysvětluje, že, zatímco indukce SSB i endo III míst působením H₂O₂ je u buněk AA8 přibližně lineární, u indukce FAPY míst tomu tak není. Po dávce 1mM je počet FAPY míst menší, než po nižší dávce 0,5 mM.

Navrhovaná klasifikace **velmi dobrý**

V Hradci Králové dne 31.5.2008


Podpis oponenta diplomové práce