

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE
FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ
Katedra biochemických věd

Studijní program: Farmacie

Posudek oponenta diplomové práce

Oponent/ka: **PharmDr. Hana Bártíková, Ph.D.**

Rok obhajoby: 2013

Autor/ka práce: Erika Vyskočilová

Název práce:

Modifikace vybraných biotransformačních enzymů v průběhu stárnutí (u potkana)

Rozsah práce: počet stran: 85, počet grafů: 10, počet obrázků: 2,

počet tabulek: 4, počet citací: 54, počet příloh: 0

Práce je: experimentální

- a) Cíl práce je: zcela splněn
- b) Jazyková a grafická úroveň: výborná
- c) Zpracování teoretické části: dobré
- d) Popis metod: velmi dobrý
- e) Presentace výsledků: výborná
- f) Diskuse, závěry: výborné
- g) Teoretický či praktický přínos práce: výborný

Případné poznámky k hodnocení: Diplomantka předložila přehledně napsanou práci s řadou hodnotných výsledků. Po jazykové stránce je práce napsána pečlivě, s minimem překlepů. Teoretická část obsahuje řadu zajímavých informací, které však na sebe mnohdy nenavazují. Pomohlo by, kdyby autorka jednou větou uvedla, proč se o daném tématu zmiňuje. Autorka někdy řeší určitou věc na více místech, hodilo by se utřídit související informace do jednoho odstavce. Formulace jsou někdy nesrozumitelné, pravděpodobně z důvodu překladu z anglického jazyka.

Kapitola Materiál a metodika je popsána zbytečně podrobně (občas na úkor srozumitelnosti), jedná se v podstatě o opsané návody.

Zpracování výsledků a diskusi považuji za velmi zdařilé a kvalitní. Poměrně rozsáhlá diskuse dává výsledky do souvislosti s řadou aktuálních článků.

Dotazy a připomínky:

- nepřesné a nejasné formulace:

str. 10 "Přítomnost ribosomů obsahujících drsné ER..."

str. 18 "Hemový atom kovu váže dva atomy kyslíku z molekuly substrátu, kterou je peroxid."

str. 18 "substrátová specifita"

str. 20 "Všechny substráty obsahují donorové a nebo akceptorové atomy vázané vodíkovou vazbou a nacházejí se na dost specifické vzdálenosti od místa metabolismu, pokud jde o počet lehkých atomů ležících mezi nimi."

str. 21 "Léčiva (dokonce i malé molekuly) mají tendenci stát se většími k získání větší selektivity a předpokládá se tedy, že CYP3A4 se svým velkým aktivním místem bude frakcí s větším přispěním do metabolismu."

str. 27 "dvojjaderný mangan"

- str. 26: kapitola o SOD, avšak autorka řeší hlavně účinky superoxidového radikálu na dehydratasy
- názvy protilátek: v metodice anglicky, v diskusi česky
- str. 35 a další: "freezer" - lze přeložit jako hlubokomrazicí box
- výpočty některých enzymových aktivit v Metodice jsou uvedeny v kataltech či jednotkách U, ačkoli ve výsledcích figurují pouze hodnoty specifické aktivity; autorka sice u stanovení bílkoviny uvádí, že aktivity byly přepočítány, ale hodilo by se to uvést již u jednotlivých enzymů
- str. 40 - ve vzorci pro výpočet SOD chybí vztažení aktivity na 1 minutu

Dotazy:

- označení enzymu GST: někdy jsou isoformy označovány jako GST alfa, μ , pí, jindy GSTA, M, P, popř. Gsta, Gstm... Má nejednotné označování nějaký důvod?

- str. 37: uvedeno, že při stanovení cytochromů P450 byl použit standardní přídavek resorufinu 47 pmol. Pokud ale byl použit zásobní roztok o koncentraci 0,47 μ M, který je v metodě zmíněn, standardní přídavek by byl pouze 4,7 pmol. Znamená to, že je údaj uveden chybně, nebo byl použit jiný zásobní roztok, než je uvedeno, či jde o překlep?

- str. 65: popis statistických rozdílů nekoresponduje s obrázkem: autorka uvádí, že se liší vzorky M5 a M6 od M1. Je to opravdu tak? Pokud ano, neměl by se lišit i M4 od M1? A neliší se též i S2 od S3?

- str. 60: velké rozdíly v aktivitě GST mezi mladými a starými jedinci, autorka však vzorky z mladých potkanů ředila pro stanovení 10x, ze starých potkanů 30x (viz metody str. 37). Nemůže rozdíl mezi jedinci souviset s rozdílným ředěním vzorků? Bylo provedeno otestování lineární závislosti aktivity na ředění vzorků? Proč byl navíc u mladých potkanů pipetován do reakční směsi 1 μ l vzorku a u starých 2 μ l? Je dobré srovnávat výsledky z nestejně provedeného stanovení?

- str. 63: u aktivity katalasy jsou ve výsledcích srovnávány jen hodnoty v cytosolu. V metodice (str. 41) je však uvedeno i ředění mirosomálních vzorků. Co je důvodem této nesrovnalosti? Byly mikrosomy nakonec měřeny?

Celkové hodnocení: velmi dobře, k obhajobě: doporučuji

V Hradci Králové dne 30.5. 2013

.....
podpis oponentky / oponenta