

Oponentský posudek na diplomovou práci Jitky Křížkové

V diplomové práci nazvané „**Cytochrome P450 1A subfamily induction by selected flavonoids**“ se autorka zabývá studiem vlivu vybraných flavonoidů na expresi cytochromů P450 1A1 a 1A2 u potkanů premedikovaných zvolenými flavonoidy. Jitka Křížková se zaměřila zejména na indukci enzymů v gastrointestinálním traktu a játrech.

Při práci na tomto tématu autorka velmi dobře zvládla širokou škálu technik (izolace mikrosomální frakce, stanovení základních parametrů, SDS elektroforéza v polyakrylamidovém gelu, imunodetekční techniky i fluorimetrická stanovení), kdy nezdá se, že bylo nutné velmi trpělivě optimalizovat a ověřovat podmínky jednotlivých stanovení. Jitka Křížková byla též schopna získaná experimentální data správně vyhodnotit a interpretovat.

Diplomová práce je přehledně členěna a stránkový rozsah jednotlivých oddílů je vyvážený. Úvod, který je srozumitelně sepsán, seznamuje čtenáře se základními pojmy a současným stavem znalostí ve studované oblasti. Výsledky jsou prezentovány formou tabulek, grafů a obrázků, z nichž je zřejmé, k čemu autorka v práci dospěla. Diskuse je adekvátní získaným výsledkům. Součástí práce je i závěr stručně sumarizující dosažené výsledky. Diplomová práce obsahuje 111 literárních odkazů, což spolu s faktem, že je psána v anglickém jazyce svědčí o autorčině zaujetí studovanou problematikou. Po formální a stylistické stránce je práce vypracována velmi pečlivě, s minimem gramatických chyb.

Z hlediska odborné úrovně a zpracování předkládanou práci hodnotím jako velmi kvalitní, v níž autorka splnila vytýčené cíle.

K práci mám následující připomínky a dotazy:

- 1) Obrázky 4.8, 4.10 a 4.12 na stranách 53 - 55 demonstrující elektroforetické rozdělení proteinů mikrosomálních frakcí nejsou opatřeny standardem molekulových hmotností, ale pouze odkazem na zónu odpovídající sledovanému CYP.
- 2) Funkce CYP je závislá na donaci elektronů z NADPH:CYP-oxidoreduktasy. Jelikož byly výsledné preparáty použity pro měření metabolické aktivity CYP 1A, aniž by reakční směs obsahovala přírůstek tohoto esenciálního enzymu, postrádá diplomová práce uvedení hodnot aktivity NADPH:CYP-oxidoreduktasy.
- 3) Podstatnou část práce na předkládané diplomové práci strávila slečna Křížková optimalizací podmínek imunodetekce CYP. Dle mého názoru jsou tyto výsledky v práci prezentovány velmi okrajově.
- 4) V tabulce 4.3 a 4.4 na straně 45 a 46 prezentujete výsledky izolací mikrosomálních frakcí jater a střev. Čím si vysvětlujete, že u střevních preparátů nebylo možno stanovit obsah CYP a to ani u vzorků zvířat premedikovaných β -naftoflavonem, naringinem či hesperidinem, které vykazovaly obdobný obsah proteinů jako preparáty jaterní?

- 5) V kapitole 4.2 uvádíte výsledky měření aktivity CYP 1A v jaterních mikrosomálních preparátech pomocí nefyziologických substrátů 7-ethoxyresorufinu a 7-methoxyresorufinu. Jak lze vysvětlit rozdílný metabolismus těchto dvou substrátů u vzorků zvířat premedikovaných naringeninem a hesperetinem?

Podle mého názoru předkládaná práce vyhovuje požadavkům kladeným na diplomové práce a proto doporučuji, aby byla přijata k obhajobě. Práci hodnotím klasifikačním stupněm výborně.

Praha 20.5. 2006

Mgr. J. Fidlerová