

Posudek na diplomovou práci Aleny Stibingerové „Metabolismus některých vybraných donorů oxidu dusnatého“

Předkládaná práce se zabývá studiem donorů NO, ať už známými a používanými dlouhou dobu (glycerol trinitrát, nitroprussid sodný, hydroxylamin), tak nově objevenými (formaldoxim, formamidoxim, acetonoxim), s důrazem na odhalení jejich možného metabolismu v živých tkáních. Práce pokračuje ve studiu problematiky, kterou se laboratoř profesora Entlichera zabývá už několik let. Oproti počátečním průkopnickým pracem laboratoře zahrnuje zkoumání širšího repertoáru potenciálních donorů i metabolizujících enzymů. Rozpracovává též vliv produkce superoxidového radikálu na genezi NO.

Práce je standardně členěna. V úvodu podává ucelený přehled dané problematiky včetně poznatků dosažených mateřskou laboratoří, definuje cíle a srozumitelně popisuje použitý materiál i metody. Výsledková část je prezentována převážně formou grafů a shrnujících tabulek. Výsledky, kterých bylo dosaženo, jsou rozebrány v diskuzi a vhodně zasazeny do kontextu toho, co už je známo.

K předkládané práci mám několik připomínek:

- Stránka 17: slovo „apoptósa“ se píše buď jako „apoptosa“ nebo „apoptóza“.
- Pokusy se superoxid dismutasou použité ke studiu vlivu superoxidového radikálu na tvorbu NO jsou spíše orientační, protože jsou provedeny sice pro různé koncentrace superoxididismutasy, ale jen jednou. To plně postačuje pro reakce, kde je vliv superoxidového radikálu zcela průkazný (např. reakce diaforasy s acetonoximem, kde se superoxidový radikál podílí 50% na vzniku NO). Nicméně u některých reakcí (např. reakce diaforasy s nitroprussidem sodným) je uváděn podíl superoxidového radikálu okolo 10%. Toto by si zasloužilo víc pokusů, aby se ověřilo, zda pozorovaný podíl je statisticky signifikantní.

Závěrem několik dotazů na autorku:

- V práci je uvedeno, že superoxidový radikál i peroxid vodíku (produkt reakce superoxididismutasy se superoxidovým radikálem) jsou pro živé tkáně toxické. Jaké obranné mechanismy si buňky vybudovaly, aby se nadbytku těchto látek zbavily?
- Pro stanovení NO byla použita nepřímá metoda: Griessova reakce stanovení dusitanů. Jaké další metody pro stanovení dusitanů znáte? Znáte nějakou přímou metodu pro stanovení NO?
- Dusitany jsou hlavním produktem reakce NO ve vodném prostředí. V diplomové práci jsou právě dusitany měřeny pomocí Griessovy reakce. Nicméně za určitých podmínek může vznikat z NO i větší množství dusičnanů. Za jakých? Jak je třeba modifikovat Griessovu reakci, aby dokázala postihnout i obsah dusičnanů ve vzorku?

Předložená diplomová práce Aleny Stibingerové dle mého názoru splňuje podmínky kladené na diplomové práce. Doporučuji, aby práce byla v rámci platné legislativy přijata k obhajobě.

V Praze dne 16.května 2007

RNDr. Petr Bartík, Ph.D.

