

**POSUDEK ŠKOLITELE STUDENTA
K OBHAJOBĚ DISERTAČNÍ PRÁCE**

Student: Mgr. Lubica Múčková
Školitel: plk. gšt. doc. PharmDr. Daniel Jun, Ph.D.
Školitel-specialista: -
Studijní program: Toxikologie
Forma studia: kombinovaná
Ročník: 4

Název disertační práce: *In vitro* charakterizácia látok modulujúcich aktivitu acetylcholinesterasy

Mgr. Lubica Múčková vypracovala svou disertační práci na Katedře toxikologie a vojenské farmacie Fakulty vojenského zdravotnictví Univerzity obrany v Brně (FVZ UO v Brně).

Tématem práce studentky byla charakterizace látek ovlivňujících aktivitu lidské acetylcholinesterasy (AChE) s pomocí *in vitro* metod. Práce studentky svým obsahem naplňuje schválené téma.

Cílem disertační práce bylo posouzení látek modulujících aktivitu AChE pomocí vybraných *in vitro* metod. Pro hodnocení byla jako modelové látky vybrána zavedená či potenciální antidota otrav nervově paralytickými látkami (asoxim, pralidoxim, obidoxim, trimedoxim, metoxim a oximy K027, K048, K074, K075 a K203) a dále látky využitelné v profylaxi těchto otrav (pyridostigmin, galantamin, rivastigmin, donepezil, takrin, 7-metoxytakrin a 6-chlorotakrin), z nichž některé byly nebo jsou zároveň využívány v terapii Alzheimerovy choroby. U zájmových látek byla hodnocena cytotoxicita na několika buněčných modelech, stanoven apoptický profil u vybraných linií po působení látek a zároveň byly s využitím několika biochemických metod sledovány vybrané markery buněčného poškození či schopnost protektivního účinku látek pomocí stanovení intracelulární hladiny volných radikálů s pomocí fluorescenčních sond a sledování jejich antioxidačních účinků. Úspěšným vývojem a ověřením uvedených metod studentka splnila vytýčené cíle své disertační práce.

Pro studium vybraných biochemických a toxikologických parametrů látek při interakci *in vitro* byly využity čtyři buněčné linie (HepG2, ACHN, SH-SY5Y a NHLF) a metody sledování interakce pomocí zvolených markerů, vhodné dle literárních pramenů pro zvolené cíle experimentální práce, tedy pro hodnocení toxicity látek. Matematické zpracování naměřených dat bylo provedeno odpovídajícím způsobem a umožnilo kvantitativní posouzení sledovaných toxicitních či protektivních parametrů.

Závěry práce jsou v souladu s provedenými experimenty a získanými daty. Studentce se úspěšně podařilo pomocí vyvinutých metod hodnotit cytotoxický a apoptický účinek zvolených zájmových látek ze skupiny reaktivátorů a inhibitorů cholinesteras a získat další informace o interakcích těchto látek s buněčnými liniemi pomocí sledování změn hladiny volných radikálů v buňkách a jejich antioxidačního potenciálu. Byla tak potvrzena funkčnost vyvinutých modelů pro hodnocení toxicity.

Přínosem práce je zavedení nových *in vitro* metod pro charakterizaci látek na pracovišti Katedry toxikologie a vojenské farmacie FVZ UO v Brně. Uvedené metody poskytují, spolu s již zavedenými přístupy studia toxicity *in vitro*, komplexní možnost posouzení nově vyvíjených potenciálních profylaktických či terapeutických antidot otrav bojovými chemickými látkami pro AČR na pracovišti před jejich hodnocením *in vivo*, čímž dochází k žádoucímu omezení počtu experimentů využívajících laboratorní zvířata. Metody jsou též využitelné při vývoji léčiv neurodegenerativních onemocnění.

Studentka v průběhu přípravy své disertační práce prokázala schopnost jak samostatné vědecké práce, tak i schopnost práce s odbornou literaturou a schopnost publikace získaných výsledků v rámci vědecké komunity. Při vývoji metod a provádění experimentů prokázala zručnost při práci v laboratoři a schopnost samostatného vývoje biochemických i toxikologických metod pro studium interakce látek s buněčnými liniemi a zpracování a hodnocení získaných dat. V roce 2015 získala a byla hlavní řešitelkou projektu specifického výzkumu na téma „Hodnotenie toxikologických parametrov látok modulujúcich aktivitu acetylcholinesterasy při interakcii s bunkovými líniami *in vitro*“. Své znalosti studentka v průběhu studia průběžně zvyšovala účastí na seminářích a workshopech zaměřených na problematiku hodnocení působení látek na buněčné linie. Výsledky své práce prezentovala na řadě tuzemských i zahraničních odborných symposií. Je hlavní autorkou dvou a spoluautorkou patnácti prací v časopisech s impakt faktorem, na kterých se podílela v průběhu studia. K datu vypracování posudku studentka dosáhla H-indexu 7 počtem citací bez autocitací 163 (dle Web of Science).

Disertační práce splňuje požadavky na disertační práce stanovené vnitřními předpisy Univerzity obrany v Brně, jedná se o dílo původní a naplňuje formální požadavky stanovené Opatřením rektora UO č. 3/2018.

Z výše uvedených důvodů disertační práci Mgr. Lubica Múčkové doporučuji k obhajobě.

Datum: 14. 8. 2020

Podpis školitele: