



UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE
FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ

500 05 Hradec Králové, Heyrovského 1203, Česká republika, <http://www.faf.cuni.cz>
tel. +420495067111, fax +420495518002

OPONENTSKÝ POSUDEK

disertační práce Mgr. Ondřeje Soukupa „Interaction of organophosphorus poisoning antidotes with muscarinic and nicotinic receptors“

Charakterizace disertační práce

Námětem předložené disertační práce bylo experimentální studium působení oximových reaktivátorů acetylcholinesterasy na vybrané typy receptorových systémů. Při řešení problematiky bylo pro analýzu interakce vybraných reaktivátorů s nikotinovými a muskarinovými receptory použito široké škály experimentálních farmakodynamických modelů na buněčné, orgánové a in vivo úrovni.

Předložená disertační práce je tvořena úvodem a přílohou obsahující soubor textů osmi prací disertanta, které byly publikovány nebo byly přijaty k publikaci v imputovaných odborných vědeckých časopisech a souvisí s předmětem disertační práce. V případě všech uvedených osmi publikací je předkladatel prvním autorem.

Souboru publikovaných prací je předržena úvodní kapitola, která v první části vymezuje cíl disertační práce a v další uvádí shrnutí v současnosti známých údajů o cholinergním systému a jeho funkcích a o systemizaci a funkci jednotlivých typů cholinergních receptorů. V další části autor stručně charakterizuje jednotlivé metodické přístupy, které byly použity v experimentální práci, jejíž výsledky jsou součástí publikací zahrnutých v disertaci. V úvodní části je zařazen též koncisní komentář dosažených výsledků s uvedením hlavních závěrů, které vyplynuly z výsledků výzkumných prací. V závěru předložené disertační práce je také připojen souhrn získaných poznatků v českém a anglickém jazyce, seznam publikací autora, které nesouvisí přímo s tématem práce, a seznam abstraktů prací, které uchazeč prezentoval na odborných konferencích.

Zhodnocení disertační práce

Téma disertační práce plně odpovídá oboru a lze je pokládat za velmi relevantní a aktuální, neboť poznání základních mechanismů působení reaktivátorů acetylcholinesterasy je rozhodujícím faktorem pro další vývoj ve studované farmakologické skupině. Zaměření a výsledky práce mají nejenom poznávací, ale v budoucnosti mohou mít i praktický klinicko-toxikologický význam.

Práce splňuje po formální stránce předepsané požadavky a obsahuje jak formulaci studované problematiky, přehled současného stavu poznání v dané oblasti, popis zvolených metod řešení, výsledky, kterých bylo dosaženo, seznam použité literatury, přehled publikovaných prací a k práci je připojen i souhrn v anglickém a českém jazyce.

Úvodní teoretická část práce stručně a přehledně shrnuje současné poznatky v dané oblasti. K vypracování tohoto teoretického úvodu bylo použito více než 70 publikací, z nichž většina je z posledních 5 let. Literární přehled je psán fundovaně a srozumitelně, bez závažných obsahových nebo formálních nedostatků.

Cíle práce jsou definovány v předložené disertační práci velmi přesně a srozumitelně a dosažené výsledky tyto vytyčené cíle odpovídajícím způsobem naplňují.

Podíl autora na experimentálních pracech, jejichž výsledky jsou v disertační práci prezentovány, není sice v práci jmenovitě definován, ale na základě přiložených publikací, ve kterých je vždy prvním autorem, lze předpokládat jeho rozhodující příspěvek k získaným výsledkům.

Experimentální metody, které jsou uvedeny v jednotlivých publikacích, zahrnují řadu pokročilých farmakologických a biochemických postupů. Metodická šíře je široká a zahrnuje jak techniky *in vivo*, tak techniky na buněčné a subcelulární úrovni. V rámci studií byly použity funkční studie *in vivo* (publikace 10.6, 10.8), orgánové studie (publikace 10.1., 10.3., 10.6), elektrofyziologické buněčné studie s použitím metody terčíkového zámku (patch-clamp) (publikace 10.8), subcelulární model pro studium uptake cholinu (10.4), vazebnostní a funkční receptorové studie (publikace 10.7), či biochemická měření typu stanovení enzymové aktivity acetylcholinesterasy (publikace 10.1., 10.2., 10.3, 10.4. 10.6). Úspěšné zvládnutí a rutinní použití uvedených metod svědčí o schopnosti uchazeče pracovat v experimentální laboratoři velmi precizně a odpovědně.

Předkladatel disertační práce prokázal schopnost cílevědomé vědecké práce, včetně prezentace získaných výsledků. Uchazeč je hlavním autorem osmi publikací s IF pohybujícím se v rozmezí 0,752 – 4,708. Navíc se doktorant podílel na dalších čtyřech publikacích uveřejněných v impaktovaných časopisech, které nejsou zahrnuty do předložené disertační práce. Vedle původních prací *in extenso* je uchazeč do současné doby autorem 14 abstraktů ze zahraničních a domácích konferencí, na kterých prezentovala výsledky své práce ve formě přednášek a posterů.

Toxikologický a vojenský význam studovaných sloučenin ze skupiny oximů je poměrně vysoký, avšak poznatky o dalších mechanismech působení těchto látek, které se vedle reaktivace acetylcholinesterasy na účincích podílejí, jsou zatím limitované. Výsledky předložené disertační práce přináší originální poznatky o mechanismech působení studovaných látek a rozšiřují a prohlubují znalosti v této oblasti farmakologie a toxikologie. Jako originální lze především hodnotit průkaz inhibice nikotinových receptorů oximovými reaktivátory *in vivo*. Významným přínosem práce je i zjištění významných mezilátkových rozdílů v účincích čtyř zkoumaných reaktivátorů acetylcholinesterasy na vybrané receptorové systémy. Práce vysvětluje velmi racionálně i některé rozdílné nálezy při užití jednotlivých experimentálních metod. Důležité jsou též získané údaje o vzájemných souvislostech mezi hlavním reaktivačním účinkem a inhibicí muskarinových a nikotinových receptorů. Autor též

přinesl nové údaje o úloze dalších systémů, které se mohou na účinku reaktivátorů acetylcholinesterasy podílet.


Připomínky a dotazy oponenta:

Všechny publikace, které jsou součástí této disertační práce, prošly recenzním řízením ve kvalitních odborných časopisech. Zásadní připomínky, které by zpochybňovaly cíle, metody a výsledky práce oponent nemá. Z formálního hlediska by pro pohodlnější a přesnější orientaci v příložených publikacích pomohlo označení jednotlivých publikací v příloze tak, jak je používáno v části 4 (Comment to the results), tj. číslování publikací v řadě 10.1 – 10.8. V seznamu literatury by měly být uvedeny pouze zkratky názvů časopisů, z kterých bylo čerpáno. Jinak je disertační práce po formální stránce na odpovídající úrovni. Následující připomínky a dotazy oponenta jsou proto zaměřeny téměř výhradně jen na upřesnění některých údajů uvedených v teoretickém úvodu a v jednotlivých publikacích:

1. V souhrnu autor uvádí, že z osmi publikací, které jsou součástí disertační práce, bylo sedm publikováno v časopisech s IF a jedna v časopise bez IF. Skutečně je jeden z těchto časopisů neimpaktovaný?
2. V disertační práci na str. 26 je uvedeno, že karbamáty patří mezi ireverzibilní inhibitory AchE. V předcházejícím textu je ovšem karbamát fysostigmin zařazen mezi reverzibilní inhibitory. Jaké je vysvětlení této skutečnosti?
3. V publikaci 10.4 (str. 543) je v metodice dvakrát uvedena formulace „The ipsilateral ascending cervical symphatetic nerve was identified and cut.“ Jde o zdvojení textu nebo byl skutečně tento manévr prováděn dvakrát?
4. Existuje představa o zvýšení míry exprese nikotinových receptorů, která je navozena přidáním nikotinu do média buněčné linie TE671 před pokusem způsobem, který je uveden v metodické části publikace 10.8?
5. Z jakého důvodu je volen poměrně dlouhý preinkubační interval 30 min před přidáním agonisty ve studiích antimuskarinového účinku oximů na preparátech močového měchýře potkana (viz např. publikace 10.1, 10.3)?
6. Proč nejsou v Table 1 v publikaci 10.1 (str. 761) uvedeny vedle směrodatných odchylek i hodnoty relevantních průměrných hodnot experimentálních výsledků při studiu kontraktilní odpovědi preparátů z močového měchýře?
7. Existují informace o možné interakci reaktivátorů acetylcholinesterasy i s dalšími typy receptorů?
8. Do jaké míry lze očekávat na základě dřívějších zkušeností s látkami ovlivňujícími cholinergní mediaci shodu při přenosu získaných experimentálních poznatků na lidské receptorové systémy? Jsou např. afinita a efekt na lidské receptory srovnatelný se situací u modelových zvířecích receptorů?

Závěr:

Na základě výše uvedených skutečností konstatuji, že práce Mgr. Ondřeje Soukupa „Interaction of organophosphorus poisoning antidotes with muscarinic and nicotinic receptors“ zcela splňuje požadavky kladené na doktorskou disertační práci v daném oboru a jasně dokumentuje schopnost autora samostatně vědecky pracovat na vysoké mezinárodní úrovni. Odbornou kvalitu předložené práce je třeba hodnotit jako velice vysokou a splňující podmínky dle §47 odst. 4 zákona. Doporučuji proto uvedenou disertační práci k obhajobě, na jejímž základě by byl udělen uchazeči vědecký titul Ph.D.



V Hradci Králové dne 12.5. 2011

Doc. PharmDr. F. Trejtnar, CSc.