

Oponentský posudek

doktorské disertační práce Mgr. Martiny Hrabínové

Vývoj metod pro testování látek ovlivňujících CNS

Oponovaná disertace byla vypracována na Fakultě vojenského zdravotnictví jako kvalifikační práce k získání titulu PhD. Disertační práce má formu uceleného spisu a jejím cílem je vypracování jednoduchých biochemických metod, které by mohly být využity při vývoji nových léčiv ovlivňujících CNS s ohledem na terapii neurodegenerativních onemocnění a terapii otrav nervově-paralytickými organofosforovými sloučeninami. Pro tyto účely byly zvoleny tři enzymy, jejichž sledování je v současné době považováno za klíčové: beta-sekretáza (BACE-1), acetylcholinesteráza (AChE) a butyrylcholinesteráza (BChE).

Beta-sekretáza je důležitým enzymem v amyloidní teorii patofyziologie Alzheimerovy nemoci (AD), obě cholinesterázy se podílí hydrolýzou acetylcholinu na jeho nedostatku v CNS u neurodegenerativních chorob a jejich sledování je důležité při vývoji léčiv AD na bázi inhibitorů cholinesterázy. Tyto látky našly praktické uplatnění v medicíně jako léčiva neurodegenerativních poruch spojených s nedostatečnou funkcí cholinergního přenosu. Obě dvě cholinesterázy jsou také důležitými markery otrav neurotoxickými organofosfáty a karbamáty. Těmto třem enzymům je věnována hlavní část experimentální práce. Ta je zaměřena na vypracování metod produkce lidských rekombinantních enzymů BACE-1, AChE a BChE a v jejich izolaci, purifikaci a validaci. U všech enzymů byla určena čistota a specifická aktivita, provedena identifikace proteinu protilátkou a stanoveny inhibiční konstanty IC_{50} pro selektivní inhibitory jednotlivých enzymů.

Zahájení experimentálních prací předcházela důkladná rešerše, zahrnující více než 200 literárních pramenů, které poskytuje uspokojivý obraz současného stavu autorkou studované problematiky. Z literárního přehledu je zřejmé, jak komplikovanou záležitostí je štěpení amyloidového prekurzorového proteinu (APP), na kolika fyziologických a patofyziologických procesech se podílí a jaké nové cesty to otevírá pro vývoj zcela nových léků. Z uvedeného je zřejmé, že problematika řešená v této disertační práci je velice aktuální a sleduje současné trendy ve vývoji léčiv.

Disertační práce má celkem 151 stran textu, z čehož 10 stran (přílohy A, B a C) zaujímá seznam publikovaných prací, na niž se doktorandka podílela jako spoluautor. Jedná se převážně o práce publikované ve vědeckých časopisech s vysokým IF. Oponovaná disertace má klasickou strukturu a vyvážený obsah bez zjevných formálních či věcných nedostatků. Je napsána stručně, jasně a

srozumitelně. Po vědecké stránce přináší nové výsledky, z nichž část již byla publikována v časopisech s IF. K práci nemám žádné připomínky. Rád bych doktorandce položil 1 otázku. V současné době je známo, že APP je enzymaticky štěpen celkem 6 sekretázami. Můžete stručně shrnout, zda jsou studovány inhibitory všech těchto enzymů a jaký profit je od toho očekáván?

Závěr: Oponovaná práce Mgr. Martiny Hrabínové splňuje v plném rozsahu požadavky kladené na disertační práci. Dokládá schopnost autorky úspěšně řešit složité vědecké problémy, využívat k tomu nejmodernější metody a přístupy a výsledky vhodnou formou prezentovat. Má nejen hodnotu jako kvalifikační spis, ale má i velký vědecký přínos. Doporučuji ji proto přijmout jako podklad k dalšímu řízení k získání titulu PhD.

Prof. RNDr. Jiří Patočka, DrSc.

Katedra radiologie a toxikologie

Zdravotně sociální fakulta

Jihočeské univerzity

v Českých Budějovicích

V Hradci Králové, 27. 1. 2021