

Oponentní posudek diplomové práce

„In vitro testování cytotoxicity antidot otrav organofosforovými sloučeninami ze skupiny reaktivátorů cholinesteras“ Bc. Jany Chvátalové

Tématem diplomové práce (DP) Bc. Jany Chvátalové je in vitro hodnocení cytotoxicity vybraných reaktivátorů cholinesteráz, používaných jako antidota u otrav organofosforovými sloučeninami, jako jsou bojové chemické látky s nervově paralytickým účinkem či organofosforové insekticidy. V teoretické části studentka popisuje cholinergní systém a jeho funkce, dále se zabývá funkcemi enzymů acetylcholinesterázy a butyrylcholinesterázy v organismu, popisuje toxické organofosforové inhibitory cholinesteráz ze skupiny nervově paralytických látek a pesticidů, mechanismus jejich účinku a diagnostiku vzniklých otrav. Uvádí detailní přehled o současných přístupech v léčbě otrav a zabývá se jednotlivými skupinami léčiv. Poslední část je věnována přehledu metod hodnocení toxicity látek na buněčných liniích. Praktická (experimentální) část práce se zabývá samotným testováním látek s pomocí běžně používaného tzv. MTT testu na několika druzích buněčných linií. Studentka hodnotila látky již zavedené v praxi – 5 sloučenin, látky nově připravené – 6 sloučenin a dále látky chemicky příbuzné některým z testovaných reaktivátorů – 2 struktury. Toxicita látek je hodnocena na základě zjištěných hodnot IC50 na pěti buněčných liniích. Studentka v závěru DP porovnává toxicitu používaných reaktivátorů ve srovnání s nově syntetizovanými a srovnává ji s toxicitou na zvířatech. Hodnocená DP má celkový rozsah 85 stran, obsahuje 5 tabulek, 14 grafů a 25 obrázků. Při jejím zpracování bylo použito 100 převážně recentních citací.

Hodnocená DP je napsána přehledným a srozumitelným způsobem, s drobnými chybami, kterým je však i přes pečlivé zpracování obtížné se vyhnout. Např. místo vrstvou je vrstvu (str. 17), antagonistu N_N receptorů je trimetafan nikoli trimetafenan (str. 20), uvedená NPL se nazývá cyklosarin nikoli cykloserin (str. 25), pesticid je pirimifos-methyl nikoli pirimihosmethyl (str. 29) a monokvartérní reaktivátor je pralidoxim nikoli pralioxim (str. 59). I přes tyto drobné překlepy konstatuji, že studentka splnila cíle, vytýčené v zadání diplomové práce pro teoretickou i praktickou část. Práce poskytla nové informace o in vitro toxicitě látek ze skupiny oximových reaktivátorů cholinesteráz, jelikož tato problematika není v odborné literatuře podrobněji zpracována a dostupné jsou spíše údaje z in vivo experimentů. Z tohoto důvodu by bylo vhodné získané výsledky publikovat v některém odborném periodiku.

Na studentku mám 3 dotazy:

1. Proč byl v práci použit k hodnocení cytotoxicity MTT test, když existují novější tetrazoliové soli, které by provedení testu s buňkami díky rozpustnosti vznikajících produktů ve vodě jistě

zjednodušily?

2. Na závěr práce píšete, že in vitro testy nemohou nahradit in vivo testy. Myslíte si, že by se daly výsledky in vitro hodnocení zlepšit zařazením dalších druhů buněčných linií do testů? Pokud ano, můžete některé vhodné linie uvést?
3. Na straně 29 uvádíte: „Pesticidy mohou být toxické nejen pro savce, ale i pro člověka, který je používá“. Kam byste tedy taxonomicky zařadila člověka?

Práci doporučuji k obhajobě a hodnotím ji známkou výborně.

Hradec Králové, 20. května 2013

PharmDr. Jan Marek, Ph.D.

Fakulta vojenského zdravotnictví UO
Třebešská 1575, 500 01 Hradec Králové

