

## Oponentský posudok diplomovej práce

**Téma diplomovej práce:** Predikce prostupu derivátů fenoxytakrinu přes hematoencefalickou bariéru

**Meno študentky:** Bc. Michaela Vanická

**Meno oponenta:** Mgr. Ľubica Múčková, Ph.D.

Predložená diplomová práca študentky Bc. Michaely Vanickej „Predikce prostupu derivátů fenoxytakrinu přes hematoencefalickou bariéru“ je zameraná na validáciu metódy pre prestup cez hematoencefalickú bariéru pomocou bunkovej línie hCMEC/D3 a následné testovanie schopnosti novo syntetizovaných derivátov fenoxytakrinu prestupovať hematoencefalickou bariérou.

Práca je prehľadne členená do jednotlivých kapitol. V úvodnej časti študentka popisuje etiológiu a farmakoterapiu Alzheimerovej choroby na základe jednotlivých hypotéz rozvoja tohto ochorenia. Ďalej popisuje možnosť využitia tzv. „Multi-target directed ligands“, ku ktorým možno zaradiť aj fenoxytakrinu študované v predkladanej práci. V teoretickej časti študentka podrobne popisuje funkciu hematoencefalickej bariéry a transport látok za fyziologických podmienok a následne rôznych patologických stavov a taktiež je zameraná na rôzne modely určené pre predikciu prestupu látok cez hematoencefalickú bariéru, kde u jednotlivých možností charakterizuje aj určité výhody a nevýhody jednotlivých systémov. Študentka precízne popisuje rôzne bunkové modely a to jak primárne kultúry tak aj rôzne bunkové línie, kde veľmi podrobne hodnotí výhody a nevýhody predovšetkým bunkovej línie hCMEC/D3, ktorá bola ďalej použitá pri riešení experimentálnej časti diplomovej práce.

Hlavným cieľom diplomovej práce bola predikcia prestupu novo syntetizovaných derivátov fenoxytakrinu cez hematoencefalickú bariéru *in vitro* pomocou bunkovej línie hCMEC/D3. Ďalšími cieľmi práce bola validácia metódy, ktorá využíva hCMEC/D3 bunkovú líniu, stanovenie cytotoxicity študovaných látok a zhodnotenie výsledkov.

Experimentálna časť práce je riešené v súlade s aktuálnymi metodologickými postupmi. Diplomátka prehľadne popisuje použité prístroje, materiál a chemikálie. Veľmi podrobne taktiež popisuje jednotlivé použité postupy práce v laboratóriu, rovnako ako aj spracovanie získaných výsledkov a ich následné štatistické vyhodnotenie. Výsledky získané počas riešenie diplomovej práce sú prehľadne spracované do tabuliek a/alebo grafov. Veľmi pozitívne hodnotím koncept celej experimentálnej časti, ktorý zahŕňa validáciu metódy pre prestup látok hematoencefalickou bariérou pomocou bunkovej línie hCMEC/D3 a taktiež sled experimentov s testovanými látkami, kedy študentka najskôr overila cytotoxicitu testovaných látok a následne hodnotila predikciu prestupu cez hematoencefalickú bariéru.

Taktiež veľmi kladne hodnotím pomerne rozsiahlu diskusiu, kde študentka podrobne hodnotí všetky získané výsledky a porovnáva ich s dostupnými literárnymi zdrojmi. V závere študentka prehľadne sumarizuje získané výsledky diplomovej práce.

Celkovo bolo v diplomovej práci použitých 129 citačných zdrojov. Diplomová práca má 78 stránok vrátane zoznamu literatúry a obsahuje celkom 6 obrázkov, 4 tabuľky a 4 grafy.

V predkladanej práci boli zistené nasledujúce **formálne nedostatky a pripomienky**:

- Nekonzistentné používanie skratiek, a to napríklad AchE a AChE
- V texte sa objavujú skratky, ktoré riadne v texte neboli vysvetlené napríklad ChE (str. 19) alebo PD (str. 20)
- Str. 21 – v štúdiu Martiny Kaniakovej a kolektívu, ktorú študentka cituje, boli použité pre *in vivo* experimenty potkany kmeňa Wistar, nie krysy
- Str. 37 – študentka uvádza, že vlastnosti hCMEC/D3 sú detailnejšie diskutované v kapitole 1.6, túto kapitolu som žiaľ v texte nenašla
- duplicitné vyjadrenie výsledkov získaných hodnôt  $IC_{50}$ , kedy študentka používa tabuľkový formát a taktiež grafické znázornenie formou stĺpcového grafu.
- nesprávne číslovanie tabuliek, pričom odkaz na tabuľku v texte číselne nesedí s konkrétnymi popismi tabuliek (tabuľka s výsledkami cytotoxicity testovaných látok na str. 51 a tabuľka obsahujúca výsledky validácie metódy hCMEC/D3 na str. 54)
- v texte chýbajú odkazy na grafy 1, 2 a 4
- v zozname tabuliek na začiatku práce chýba tabuľka č. 4

Aj napriek drobným formálnym nedostatkom splňuje predkladaná diplomová práca požiadavky kladené na tento typ práce a preto ju **doporučujem k obhajobe a klasifikujem ju známkou**

**výborně-M (B)**

Na študentku mám nasledujúce otázky:

1. V úvodnej časti popisujete, že monovrstva vytvorená bunkovou líniou hCMEC/D3 neposkytuje príliš vysokú paracelulárnu integritu a celú škálu postupov ako ju je možné zvýšiť. Chcela by som sa preto spýtať, či bola v experimentálnej časti práce použitá iba samotná monovrstva, alebo ste použili aj nejaký postup, ktorý by paracelulárnu integritu monovrstvy zvýšil?
2. Aké chemické vlastnosti ovplyvňujú schopnosť látky prestupovať hematoencefalickou bariérou?
3. Kvôli pomerne vysokej cytotoxicite neboli testované na predikciu prestupu niektoré látky testované z dôvodu nízkej citlivosti použitej UV-VIS spektrometrickej metódy. Akú ďalšiu metódu by ste doporučila, aby mohli byť na predikciu prestupu pre tieto látky?

4. Látka K1705 bola v práci zaradená medzi látky s neistou penetráciou hematoencefalickou bariériou. Existuje nejaká možnosť, metóda alebo postup pre rozhodnutie o tom, či je teda látka schopná prestupovať do mozgu alebo nie?

V Hradci Králové 20.5.2021

Mgr. Ľubica Múčková, Ph.D.  
Fakulta vojenského zdravotníctva  
Univerzity obrany  
Katedra toxikológie a vojenskej farmacie  
Šimkova 878/15  
Hradec Králové 500 03