

Posudek oponenta doktorské dizertační práce:

“Modulace synaptického přenosu nociceptivní signalizace v zadním rohu míšním” vypracované Mgr. Dianou Špicarovou

Předložená dizertační práce byla vypracována v oddělení funkční morfologie Fyziologického ústavu AV ČR, v.v.i., pod vedením MUDr. Jiřího Palečka, CSc.

Struktura a formální úroveň práce

V úvodní části spisu (45 stran) jsou obsaženy základní údaje o všeobecných poznatcích týkajících se anatomických, fyziologických a receptorových aspektů studia nociceptivního synaptického přenosu. Cíle práce jsou přehledně formulovány ve třech bodech zahrnujících studium účinku endogenního aktivátoru vaniloidních receptorů N-oleoyldopaminu, účinku cytokinu TNF α na modulaci nociceptivního synaptického přenosu a studium působení inzulinu na rychlý synaptický přenos zprostředkovaný AMPA receptory. Výsledky experimentální práce (22 stran) předchází podrobný popis metodických přístupů (7 stran). V diskusi výsledků práce (18 stran) se autorka soustředí na stručné shrnutí výsledků a objasnění souvislostí dané problematiky v kontextu současných poznatků. Podkladem předložené dizertace jsou výsledky publikované v impaktovaných mezinárodních časopisech (dvě primární publikace a přehledný článek), což svědčí o vědecké kvalitě a aktuálnosti řešené problematiky. Práce je psána velmi pečlivě, přehledně, s jasně formulovanými myšlenkami. Seznam použité literatury je z hlediska rozsahu i potřeby řešené problematiky přiměřený.

Použité metody vědecké práce

Autorka používala vhodně zvolené, metodicky náročné techniky, zejména elektrofyzilogické techniky snímání aktivity z akutně připravovaných míšních řezů, které jsou na pracovišti dobře zavedené a zaručují spolehlivost získaných dat. Metodické přístupy jsou v práci dostatečně popsány.

Splnění cílů práce

Objem experimentálních výsledků je přiměřeně rozsáhlý, práce přináší nové poznatky a nepochybně vypovídá o vhodně zvolených dílčích tématech. V tomto ohledu vysoce hodnotím, že řešená problematika zvažuje různá hlediska modulace nociceptivní signalizace zahrnující presynaptickou i postsynaptickou část a některé důležité signalizační dráhy. Cíle práce, srozumitelně formulované na str. 47, byly podle mého názoru beze zbytku adresovány v experimentální části a správně diskutovány. Velmi oceňuji, že v diskusi se autorka zmiňuje také o jiných možných interpretacích uvedených výsledků a upozorňuje na logické souvislosti bez uvádění nadbytečných spekulací.

Vlastní vědecký a praktický přínos práce

Studium mechanismů modulace nociceptivní signalizace představuje jeden ze závažných směrů receptorového výzkumu, které by mohly v budoucnu významně posunout hranice farmakologického poznání zaměřeného na hledání účinných léků proti chronické bolesti. S ohledem na specifickou distribuci TRPV1 receptorů v nociceptivních drahách nervového systému a obecnou úlohu AMPA receptorů v modulaci synaptického přenosu mají výsledky dalekosáhlý význam pro pochopení fyziologické úlohy těchto receptorů. Není proto pochyby,

že zvolené téma dizertační práce je aktuální a závažné. Předložená práce přináší nové poznatky, z nichž za nejvýznamnější považuji důkaz možného působení N-oleoyldopaminu jako endogenního aktivátoru centrálních TRPV1 a zjištění prokazující možný presynaptický účinek cytokinu TNF α ve vztahu k těmto specifickým receptorům.

Závěr:

V souhrnu konstatuji, že předložená práce Mgr. Diany Špicarové prokazuje zvládnutí náročné odborné tematiky a splňuje jak formální, tak obsahové náležitosti doktorské dizertační práce. Autorka práce prokázala schopnost samostatné vědecké práce a kritického posouzení formulovaných hypotéz. S ohledem na všechny skutečnosti uvedené v textu posudku navrhuji, aby Mgr. Dianě Špicarové byl udělen titul Ph.D..

V Praze, 17. května 2010

RNDr. Viktorie Vlachová, DrSc.
Fyziologický ústav AV ČR
Vídeňská 1083
142 20 Praha 4 – Krč

Námět pro rozpravu:

1. Výsledky dizertační práce přesvědčivě prokazují ovlivnění synaptického přenosu cytokinem TNF α , které je vysvětleno jako důsledek zvýšeného výlevu glutamátu z primárních aferentních vláken citlivých ke kapsaicinu. Je možné, že na zvýšení základní kontrolní frekvence mEPSC TNF α cytokinem se může podílet asynchronní glutamátový výlev zprostředkovaný TRPV1 receptory (*Peters et al. Neuron, 2010, 65(5), 657-669*)? Myslí si autorka, že by v takovém procesu mohla přispívat napěťová aktivace TRPV1 receptoru?
2. Je známo, že lavendustin A ovlivňuje vazbu ATP na tyrozin-specifické proteinkinázy a v literatuře zmiňován jako inhibitor TRPV1 receptoru (*Kwak et al, J. Neurosci., 2000, 20(22):8298–8304*). Z pokusů uvedených v poslední kapitole práce a jak sama autorka uvádí v diskuzi, vyplývá, že na základě účinku této modulační látky nelze jednoznačně rozhodnout o mechanismu na receptorové úrovni. Zkoušela autorka v pokusech s inzulinem také jiné modulátory kináz? Zkoušela účinek genisteinu, wortmaninu, nebo neaktivní formy lavendustinu (B)?