

Institute of Physiology AS CR

Ladislav Vyklický Jr., M.D., DSc.
Department of Cellular Neurophysiology
Institute of Physiology AS CR v.v.i.
Výdeňská 1083, 142 20 Prague 4

Telephone: (420) 24106 2450
FAX: (420) 24106 2488
E-mail: vyklicky@biomed.cas.cz
<http://www2.biomed.cas.cz/d331/index.html>

Oponentský posudek disertační práce

Název práce: Funkční úloha P2X receptorů v supraoptických jádrech hypothalamu potkana a strukturně-funkční vlastnosti rekombinantních P2X receptorů

Autor: Mgr. Vojtěch Vávra

Předložená disertační práce je členěna do 9 hlavních částí, s celkovým rozsahem 60 stran. Hlavní část disertace tvoří suplementum tvořené pěti originálními pracemi. Text je dobře napsaný a představuje původní informace o struktuře, funkci a farmakologii ionotropních a metabotropních receptorů aktivovaných puriny a pyrimidiny.

Úvod práce je přehledný a přináší základní údaje o P1, P2Y a P2X receptorech v nervových a gliových buňkách. Text je srozumitelný a vhodně doplněny ilustrativními obrázky. Z hlediska odborného, literární přehled ústí v logické položení si experimentálních otázek. Cílem práce bylo: (*i.*) popsat, které podtypy P2X kontrolují funkci neuronů v supraoptickém jádře a jak v tomto jádře regulují synaptický přenos, (*ii.*) objasnit, jaká je úloha konzervovaných cysteinů a aromatických aminokyselin v P2X receptoru a (*iii.*) charakterizovat, které aminokyseliny se podílejí na vazbě ivermektinu.

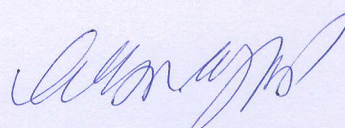
Experimentálně se práce opírá především o výsledky elektrofyziologické analýzy nativních a rekoimbinantních receptorů. Autor ukázal, že v supraoptickém jádře jsou exprimovány především P2X2, P2X4 a P2X7 receptory s tím, že P2X2 a P2X4 receptory jsou exprimovány na neuronech, zatímco P2X7 receptory na gliích. Aktivace presynaptických P2X receptorů zvyšuje uvolňování glutamátu a GABA. U rekombinantních P2X4 receptorů ukázal význam cysteinových párů (SS1, SS2 a SS4) pro tvorbu ATP vazebného místa a páru SS5 pro otevírání kanálu. Dále charakterizoval úlohu konzervovaných aminokyselin pro funkci a farmakologii P2X receptorů a identifikoval skupinu dvanácti aminokyselinových zbytků, které jsou podstatné pro vazbu ivermektinu na P2X receptor.

Dosažené výsledky studia P2X receptorů předložené v disertační práci přinesly původní nálezy vysoké odborné úrovně, které jsou dobře prezentovány. Některé výsledky byly již publikovány v prestižních mezinárodních časopisech – Journal of Neurochemistry, European Journal of Physiology a Neuroscience. Výsledky hodnotím vysoce a

multidisciplinární přístup k řešení experimentálních otázek je příkladný a svědčí o mimořádných schopnostech Mgr. Vávry. Disertační práci jsem oponoval při interní obhajobě a k její předložené podobě nemám zásadních připomínek.

ZÁVĚR: Předložená disertační práce obsahuje původní nálezy, které významným způsobem rozšiřují naše poznání v oblasti neurobiologie. Protože autor v předložené disertační práci dokázal, že má schopnosti řešit experimentální otázky základního výzkumu na vysoké odborné úrovni za použití molekulárně biologických, morfologických a elektrofyziologických metod, doporučuji, aby Mgr. Vojtěchu Vávrovi byl udělen titul Ph.D.

Praha, 18. srpna 2011



MUDr. Ladislav Vyklický DrSc.

V souvislosti s tématem práce mám dvě otázky: (1.) Intravenózní podání ATP má systémové účinky. Jaké receptory se uplatňují a jakými mechanismy dochází ke změnám v kardiovaskulární soustavě. (2.) Existuje jen velmi málo studií, které ukazují funkční purinergní synapse. Sám jsem snímal postsynaptické proudy z řady oblastí mozku a míchy, ale nikdy jsem nepozoroval postsynaptické proudy jiné než ty vzniklé aktivací GABA a glutamátových receptorů. Podobně i řada mých kolegů. Existuje skutečně purinergní synapse a je ATP skutečný přenašeč nebo se jedná „pouze“ o modulátor synaptického přenosu?