

Oponentský posudek dizertační práce „Modulační vliv monovalentních iontů na δ -opioidní receptory” Ing. Miroslavy Vošahlíkové

Předložená dizertační práce „Modulační vliv monovalentních iontů na δ -opioidní receptory” Ing. Miroslavy Vošahlíkové je výsledkem jejího postgraduálního doktorského studia biomedicíny v oboru biochemie a patobiochemie. Školitelem byl doc. RNDr. Petr Svoboda, DrSc. Dizertace byla vypracována ve Fyziologickém ústavu AV ČR, v.v.i., Oddělení biochemie membránových receptorů. Dizertace má 56 stran textu v češtině plus kopie 4 publikací s IF (1,55-5,0) z let 2010-2014, které jsou podkladem dizertace a kde je Ing. Vošahlíková 2x uvedena jako první autorka a 2x jako spoluautorka, to vše dohromady ve vázané formě v 1 svazku. Vlastní 56 stránkový text dizertace zahrnuje prohlášení o samostatném vypracování této dizertace, poděkování, abstrakt v češtině i angličtině, obsah, seznam vlastních publikací, přehled použitých zkratk, velmi zajímavě napsaný literární přehled (10stránek - o receptorech spřažených s G proteiny (GPCRs), přenosu signálu pomocí GPCRs, GPCRs-G α fúzním proteinu, konstitutivní aktivitě a inverzních agonistech, opioidech a opioidních receptorech (OR) a interakci monovalentních iontů s OR), cíle disertace, použité metody, výsledky a diskuse shrnuté do jednoho celku (20 stran v nichž jsou rozvedeny texty těchto částí v publikacích I-IV, které jsou podkladem předložené dizertace), závěr, shrnutí summary, seznam použité literatury (10 stran, asi 160 publikací) a přílohy (kopie in extenso publikací I-IV v časopisech s IF v angličtině, které jsou podkladem této dizertace). Autoreferát (téže) disertační práce je v češtině s anglickým abstraktem, má 19 stránek a osnovu v souladu s řádem doktorského studijního programu v biomedicíně.

Téma předložené dizertace je podle mého názoru velmi aktuální: svět biochemických a molekulárně biologických dějů na buněčné úrovni je velmi bohatý, platí to i pro oblast δ -opioidních receptorů, kde hlubší poznání má význam nejen obecný, ale může mít i význam praktický, např. při hledání nových farmak. Jsem rád, že i u nás jsou experti a je pracoviště, které se mohlo na světové úrovni zapojit do tohoto výzkumu, vychovávat nové odborníky v této oblasti a vytvořit tak předpoklady pro další rozvoj vědního oboru.

Předložená dizertace má jasné cíle (zjišťovat změny v signální dráze opioidních receptorů vyvolané dlouhodobým působením morfinu ve frontální kůře potkanů, zjišťovat účinky sodných a jiných monovalentních iontů na δ -OR a jeho funkční spřažení s G-proteiny na transfekované buněčné linii HEK293). Je metodicky bohatá, náročná, moderní, různorodá (metody biochemické, izolace plazmatických membrán, vazebné studie s radioligandy, fluorescenční spektroskopie, tkáňové kultury, experimenty na celých zvířatech). Dizertantka tak měla možnost získat bohaté metodické dovednosti a zkušenosti.

Dizertační práce i její autoreferát jsou napsány velmi pečlivě, rigorózně, srozumitelně.

Cíle dizertace byly splněny za rigorózních podmínek vědeckého experimentu a s použitím osvědčených metod.

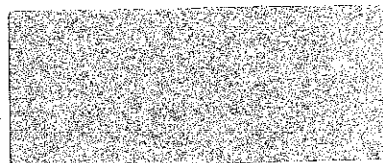
Byly získány originální výsledky svědčící pro to, že mechanismus závislosti na morfinu je založen na desenzitizaci opioidních receptorů, která nastává již na úrovni G proteinů. Bylo zjištěno, že přitom dochází ke zvýšení adenylyl cyklázy I a II v plazmatických membránách izolovaných z frontální mozkové kůry potkanů dlouhodobě ovlivněných morfinem. Na opioidních receptorech HEK293 buněk bylo zjištěno, že sodíkové ionty vykazují nejvyšší schopnost inhibovat bazální aktivitu G proteinu, tj nejvyšší aktivitu typu inverzních agonistů, a byly rozlišeny vysoko- a nízkoafinní místa pro Na^+ . Byl stanoven účinek monovalentních iontů sodíku, draslíku, lithia a cesia při interakci s polárním rozhraním membrána-voda a hydrofóbním vnitřkem membránové dvojvrstvy.

K předložené pečlivě zpracované dizertaci nemám zásadní výhrady pokud se týká metod a zhodnocení výsledků. Mám několik otázek, připomínek, které by snad mohly být zodpovězeny během diskuse při obhajobě této dizertační práce:

1. Při aplikaci morfinu potkanům byla používána nitrosvalová (i.m.) aplikace. Do kterého svalu, jak se to technicky provádělo? Proč nebyla použita snažší aplikace podkožní (s.c.)?
2. Na str. 19 dizertace se uvádí: „Někteří inverzní agonisté jsou běžně používanými léky“. Které to jsou?
3. Literární přehled dizertace poskytuje zajímavé informace, aktuální i historické, je čtivý, doplněný četnými obrázky. Škoda, že podobným způsobem nebylo aspoň stručně probráno, co se ví o úloze δ -OR v bolesti, závislosti, útlumu dýchání, euforii, zácpě, apod.

Disertace obsahuje originální výsledky, které autorka disertace publikovala jako původní práce v plném znění ve vědeckých časopisech s IF a které prošly rigorózním recenzním řízením.

Závěrem mohu konstatovat, že předložená dizertace splňuje požadavky řádu doktorského studijního programu v biomedicíně, tj. je uceleným vědeckým pojednáním se zajímavými a metodicky kvalitně získanými vlastními původními výsledky. Disertační práce prokazuje předpoklady Ing. Miroslavy Vošahlíkové k samostatné tvořivé vědecké práci a k udělení titulu „Ph.D.“ za jménem.



V Praze, 31. května 2014

Prof. MUDr. Miloslav Kršiak, Dr.Sc., FCMA
Ústav farmakologie 3. LF UK v Praze