

Institute of Physiology CAS

Ladislav Vyklický M.D., DSc.
Department of Cellular Neurophysiology
Institute of Physiology CAS
Václavská 1083, 142 20 Prague 4

Telephone: (420) 24106 2450
E-mail: Ladislav.Vyklicky@fgu.cas.cz
www.biomed.cas.cz/odd031/

Oponentský posudek disertační práce

Název práce: Age and sex differences in GABAergic transmission in the substantia nigra reticulata in the rat

Autor: MUDr. Ondřej Chudomel

Disertační práce byla zaměřena především na studium GABA_A receptorů a jimi zprostředkovaného synaptického přenosu za použití kombinace elektrofyziologických a imunochemických technik. Vlastnosti receptorů byly sledovány v rámci třech věkových skupin s cílem ukázat, jak se mění jejich farmakologické vlastnosti a do jaké míry je ovlivněn synaptický přenos, se zaměřením na GABA_A receptory obsahující $\alpha 1$ a $\alpha 2$ podjednotky, a dále na tonicky aktivované receptory, které obsahují δ podjednotku. Autor ukázal, že se některé charakteristiky GABA_A receptorů, pravděpodobně podmíněné jejich podjednotkovým složením, mění s věkem a že jsou pohlavně vázány. I přes to, že mnohé rozdíly jsou z kvantitativního hlediska malé, měl by další výzkum směřovat k zodpovězení otázky, do jaké míry jsou tyto změny biologicky důležité, případně jak se podílí na vzniku či ukončení epileptických záchvatů.

Práce je podána v prodloužené verzi a je členěna klasicky na úvod, cíle, metody, výsledky, diskusi, závěry, seznam literatury a autorovy publikace. Úvod je čtivý a v přehledné formě se soustředí na podání podstatných informací, nezbytných pro vlastní experimentální práci. Úvodní kapitola logicky vyúsťuje ve stanovení si tří hlavních experimentálních cílů podložených odpovídajícími hypotézami. Cíle práce se formálně kryjí s přiloženými pracemi a jsou srozumitelné.

Výsledky studia MUDr. Ondřeje Chudomela přinesly původní nálezy vysoké odborné úrovně, které jsou dobře prezentovány a byly publikovány v mezinárodních časopisech – *Journal of Neuroscience*, *Neurobiology of Disease* nebo *Neuroscience*. Výsledky hodnotím pozitivně a multidisciplinární přístup k řešení experimentálních otázek je příkladný a svědčí o mimořádných schopnostech MUDr. Chudomela. K disertační práci nemám zásadních připomínek.

Dosažené výsledky, obsažené v předložené disertační práci, přinesly původní nálezy odborné úrovně, které prokazují autorovy předpoklady pro samostatnou tvořivou vědeckou práci, a po formální stránce splňují kritéria, které si stanovila OR Neurověd pro obhájení titulu Ph.D. Doporučuji proto, aby MUDr. Ondřeji Chudomelovi byl (za jménem) udělen titul Ph.D.

Praha, 22. dubna 2016

MUDr. Ladislav Vyklický DrSc.

V souvislosti s tématem práce mám několik otázek:

I přes to, že GABA_A receptory jsou klasicky řazeny mezi inhibiční, jejich aktivace může vést k depolarizaci (excitaci), nebo naopak k hyperpolarizaci a k inhibici. Tento funkčně odlišný vliv je podmíněn změnami Cl⁻ uvnitř buňky, ke kterým dochází během vývoje. Ve vašich elektrofyziologických pokusech jste použili intracelulární roztok s vysokou, téměř 150 mM koncentrací Cl⁻. Za těchto okolností povede aktivace GABA_A receptorů vždy k excitaci. Jaký vliv by měla aktivace těchto receptorů, kdybyste zvolili intracelulární roztok, který svojí koncentrací Cl⁻ odpovídá situaci *in vivo* v daných věkových skupinách?

Jaký je původ spontánních IPSC, které byly pozorovány v roztoku s inhibitory ionotropních glutamátových receptorů. Aktivita – soudě z např. z obr. 5, je vysoká. Jaký je mechanismus této rytmické aktivity?

Na str. 44 v obrázku 9 je graf, který ukazuje, že pro mnohé sIPSC je nástup proudu pomalejší než jeho pokles. To je poměrně nezvyklé – jak si to vysvětlujete?

Vzhledem k přípravě řízků – tj. poškození povrchové vrstvy uříznutím části dendritického stromu – musí dojít ke zničení části synapsi. Do jaké míry mohly případné změny ovlivnit amplitudu snímaných synaptických proudů? Nebylo by lepší srovnávat mIPSC?

Účinek tonické aktivace GABA_A receptorů popsany v řízcích nervové tkáně je biologicky zajímavý. Existují důkazy, že tento fenomén existuje také *in vivo*? Narážím na to, že řízky nervové tkáně jsou poškozeny, neurony v hypoxickém stavu, při teplotě, za které mozek již přestává fungovat. S tímto bodem se pojí i otázka, jak látky strukturálně podobné GABA, účinkující na GABA_A receptorech jako agonisté nebo antagonisté, působí na transportních systémech pro GABA?