

Posudek doktorské dizertační práce **Mgr. Pavla Adámka:**

*“The role of nociceptive synaptic transmission modulation at the spinal cord level
in different pain states”*

Doktorská dizertační práce Mgr. Pavla Adámka je zaměřena na studium mechanismů modulace nociceptivního synaptického přenosu na míšní úrovni. Experimentální otázky, které si autor ve své práci klade, jsou důležité jak z hlediska poznání základních mechanismů nocicepce, tak z hlediska vztahu problematiky ke společenské závažnosti různých bolestivých stavů, pro které dosud nejsou nalezeny uspokojivé terapeutické přístupy. Mezi takové otázky patří objasnění příčin rozvoje neuropatické bolesti spojené s nežádoucími účinky chemoterapeutik, bolesti spojené s popálením a neurogenními zánětlivými stavy.

Autor využívá různé animální modely neuropatické bolesti, imunohistochemické metody a elektrofyziologickou techniku patch-clamp ke snímání aktivity vizuálně identifikovaných neuronů z míšních řezů. Cíle práce jsou přehledně formulovány na str. 77-78 ve specifických bodech zahrnujících (a) objasnění úlohy TLR4 a TRPV1 receptorů v rozvoji neuropatické bolesti vyvolané rostlinným alkaloidem ze skupiny taxanů paclitaxelem, určení (b) úlohy Nav1.7 sodíkového kanálu v míšní nociceptivní signalizaci v modelu bolesti po popálení a (c) úlohy prekursoru anandamidu v modulaci nociceptivního synaptického přenosu v podmínkách vyvolaného zánětu.

Měla jsem příležitost přečíst a oponovat první verzi této dizertace v rámci interního oponentního řízení ve Fyziologickém ústavu AV ČR. Všechny mé připomínky a náměty k vylepšení formální i obsahové stránky práce autor velmi pozorně zapracoval. Stávající předložená verze dizertace podle mého názoru neobsahuje věcné ani formální nedostatky.

Práce má celkově 152 stran (bez přílohy), je psána v angličtině, po formální stránce mimořádně pečlivě zpracována, přehledně uspořádaná, logicky promyšlená, psána přesným a stylisticky přímočarým stylem a výsledky jsou relevantně dokumentovány. V rozsáhlé úvodní části (~70 stran) jsou vysvětleny základní informace, definice a teoretické aspekty zahrnující (často přesahující) problematiku jednotlivých výše uvedených cílů. Tato část je natolik důkladně zpracována, že by autor v budoucnu mohl zvážit její úpravu na užitečný přehledný článek.

Výsledky prezentované v dizertační práci (strany 89-115) přinášejí řadu nových výsledků v aktuální oblasti výzkumu a jsou podkladem, či přispívají, k pěti primárním publikacím v respektovaných mezinárodních časopisech (Neuropharmacology, Journal of Molecular Medicine, British Journal of Pharmacology a Journal of Neuroscience). Z hlediska posouzení této části dizertační práce si proto nekladu za cíl provést recenzi již publikovaných výsledků. Vyjadřuji se především k formě práce a významnému přínosu autora k výsledkům a diskusi prezentovaných dat.

Kromě publikovaných dat, zahrnuje výsledková část zajímavá, dosud nepublikovaná předběžná pozorování, jejichž cílem je pomocí selektivní aktivace inhibičních interneuronů

zjistit jejich specifickou úlohu na třech různých modelech bolesti (vyvolávajících mechanickou alodynii). Autorovi se podařilo úspěšně optimalizovat stimulační protokol a popsat změny v hlavních charakteristikách excitačních a inhibičních proudů na míšních neuronech transgenních myší.

Závěr:

Předložená dizertace je uceleným souborem originálních výsledků publikovaných v impaktovaných mezinárodních časopisech. Studium mechanismů nocicepce a bolesti představuje jeden z významných směrů neurofyziologického výzkumu. Není proto pochyby, že zvolené téma dizertační práce je aktuální a závažné. Z publikací je zřejmé, že autor v průběhu postgraduálního studia získal bohaté zkušenosti samostatné a tvůrčí vědecké práce. Vysoce hodnotím systematickosti a mimořádně pečlivé zpracování dizertace.

V souhrnu konstatuji, že Mgr. Pavel Adámek prokazuje vysokou odbornou kvalifikaci, schopnost samostatné vědecké práce, zvládnutí náročné odborné tematiky a kritického posouzení formulovaných hypotéz. Předložený text splňuje jak formální, tak obsahové náležitosti doktorské dizertační práce. Proto doporučuji udělení titulu Ph.D.

RNDr. Viktorie Vlachová, DrSc.

Fyziologický ústav AV ČR

Praha, 13.5.2019

Námět pro rozpravu a otázky:

1. Výsledky ukazují, že anandamid může být za Vašich experimentálních podmínek syntetizován z prekursoru 20:4-NAPE. Je něco známo o tom, zda tato látka může aktivovat v poměrně vysokých koncentracích 20-100 μM přímo TRPV1? Anandamid je robustním aktivátorem TRPA1. Můžete komentovat možnou roli tohoto receptoru v kontextu Vašich výsledků? Jsou Vámi předpokládané koncentrace anandamidu ve Vašich pokusech fyziologické?
2. Za endogenních podmínek je koncentrace anandamidu velmi nízká a tato látka má velmi krátkou dobu rozpadu; je štěpena hydrolázou FAAH, mj. na arachidonovou kyselinu, která ovlivňuje řadu dalších procesů. Zjišťovali jste, jak dlouho přetrvává anandamid ve Vašich experimentech?
3. Účinky paclitaxelu v rozvoji neuropatické bolesti jsou v některých studiích přičítány zvýšené hladině reaktivních forem kyslíku a buněčným signálním drahám, které na nociceptivních neuronech senzitivizují TRPV1, TRPA1 a TRPV4 receptory. TRPV1 a TRPA1 jsou v nociceptorech koexprimovány. Jakou měrou se na pozorovaném účinku paclitaxelu na druhou kapsaicinovou odpověď může podílet TRPA1? Jedním z projevů působení paclitaxelu je degenerace axonů sensorických neuronů, na které se podílí IP3R. Je teoreticky možné, že inhibice PI3K ve Vašich experimentech může působit prostřednictvím snížené produkce IP3, tj. agonisty IP3R ?