



**Ústav
experimentální
medicíny AV ČR, v.v.i.**

EU Centre of Excellence

Posudek dizertační práce

Autor: Mgr. Filip Touška

Název práce: Mechanizmy aktivace a modulace iontových kanálů specifických pro nociceptivní neurony

Datum: 20. 8. 2019

Dizertační práce Mgr. Filipa Toušky pojednává o biofyzikálních a farmakologických vlastnostech iontových kanálů, zapojených v přenosu nociceptivních signálů u savců. Jedná se o tzv. zkrácenou verzi práce. Členění práce odpovídá tomuto formátu. Všeobecná část obsahuje přehled dosavadních poznatků o vlastnostech iontových kanálů u nociceptorů a termoreceptorů, dále toxinů a přírodních analgetik, které jsou vztaženy k výsledkové části dizertace. Cíle práce uvádějí zaměření jednotlivých experimentálních sérií dizertace. Výsledková část sestává ze souboru 8 primárních publikací. Práce byly zaměřeny na zkoumání $\text{Na}_v1.8$ a $\text{Na}_v1.9$ podtypů Na^+ kanálů z hlediska jejich teplotní závislosti a úlohy při vedení vzruchu v primárních aferentních neuronech. Dále na molekulární mechanismy účinků ciguatoxinu, crotalphanu a camphoru, přirozeně se vyskytujících látek s nociceptivními nebo analgetickými účinky. Zbývající část publikací se zabývá vývojem a využitím speciálního zařízení pro testování preference okolní teploty u myši. Výsledky jsou následně diskutovány se zřetelem k současné úrovni poznání dané problematiky a na závěr shrnuty se zdůrazněním potenciálního významu nálezů pro pochopení fyziologické a patofyziologické role iontových kanálů v nocicepci u savců. Celkově jde o pozoruhodnou práci vycházející z výsledků publikovaných v kvalitních mezinárodních časopisech a pocházející z laboratoře s bohatou zkušeností s danou problematikou. Rovněž oceňuji použití moderních experimentálních technik, jako FRET, fMRI, Ca-imaging, exprese proteinů v heterologních systémech, atd. Vysoká odborná úroveň předloženého textu a připojených publikací prokazují, že Mgr. Filip Touška zvládl metodicky náročné experimenty, dosáhl řady důležitých výsledků a splnil všechny formální požadavky úspěšného zakončení doktorandského studia Fyziologie živočichů. Doporučuji proto, aby mu byl udělen titul PhD.



Rád bych autorovi položil jednu specifickou a jednu obecnější otázku:

1. **Jaký je mechanismus (nebo sekvence událostí) vedoucí ke camphorem-
vyvolanému pocitu chladu u myši?** Tyto vjemy jsou typicky zprostředkovány TRPM8
kanály. Výsledky v dizertaci souhlasně ukazují, že “chladivý” efekt camphoru vyžaduje
přítomnost TRPM8 (pomocí TRPM8-deficientních myši). V rozporu se ale jeví to, že látka
současně značně inhibuje aktivitu TRPM8. Výsledky dále ukázaly, že camphor inhibuje K^+
kanály $K_v7.2/3$. Jsou tyto kanály tonicky aktivní při klidových potenciálech nociceptivních
buněk, takže camphor může zvýšit jejich excitabilitu inhibicí $K_v7.2/3$? Pokud ne, jaký je
mechanismus dostatečné depolarizace pro jejich aktivaci při působení camphoru?

2. **Co je známo o subcelulární distribuci zkoumaných iontových kanálů v
nociceptivních neuronech (TRPV1, TRPA1, TRPM8, $K_v7.2/3$, $Na_v1.8$, $Na_v1.9$)?** Výsledky
v dizertaci naznačují, že kompartmentalizace kanálů je důležitým faktorem ovlivňujícím
jejich schopnost zprostředkovat nocicepci nebo účinky modulátorů nociceptorů. Příklad:
autoři práce ukazují, že ciguatoxin vyvolává exocytózu CGRP z presynaptických zakončení.
Tento efekt je zprostředkován Na^+ a Ca^{2+} -závislým mechanismem, ale neočekávaně i u myši s
deletovanými TRPA1 (autoři dříve ukázali, že TRPA1 je aktivován působením některých
ciguatoxinů). To by mohlo naznačovat diferenciální distribuci TRPA1 mezi presynaptické a
postsynaptické části peptidergních buněk.

RNDr. Rostislav Tureček, PhD
ÚEM AVČR
e-mail: rostislav.turecek@iem.cas.cz
tel.: 241 062 748