



**Posudek školitele disertační práce Ing. Štěpána Kortuse
“Ca²⁺ signalling in magnocellular neurones of the rat supraoptic nucleus”**

Školitel:

RNDr. Martin Zápotocký, Ph.D.

Fyziologický ústav Akademie věd České republiky

V předložené disertační práci Ing. Kortus zevrubně analyzuje vápníkovou signalizaci v magnocelulárních neuronech hypothalamu, jež produkují hormony vazopresin a oxytocin. Z předchozí literatury je známo, že vnitrobuněčná hladina vápenatých iontů reguluje sekreci těchto hormonů. Disertace se zaměřuje na pochopení mechanismů, které řídí změny koncentrace Ca²⁺ v závislosti na fyziologických stimulech.

Práce kombinuje rozsáhlá experimentální měření se zevrubnou výpočetní analýzou nasbíraných dat. Měření byla založena na monitorování cytosolární hladiny Ca²⁺ za použití fluorescenčních indikátorů, v neuronech izolovaných ze supraoptického jádra mozku potkanů. Tyto experimenty doktorand prováděl v laboratoři konzultanta disertace, dr. Govindana Dayanithiho. Následná výpočetní analýza pak probíhala ve spolupráci se školitelem, přičemž implementace této analýzy byla plně provedena doktorandem.

V práci jsou analyzovány dva typy vápníkové dynamiky. Prvním typem jsou spontánní oscilace koncentrace Ca²⁺, které byly pro tento typ neuronů vůbec poprvé podrobně studovány v práci Ing. Kortuse. Mimo jiné se zde podařilo pomocí farmakologických manipulací jednotlivých komponent signální dráhy ukázat, že spontánní vápníkové oscilace jsou u těchto neuronů mediovány Na⁺/Ca²⁺ výměníkem alternujícím mezi přímým a reverzním režimem. Bylo také ukázáno, jak jsou tyto spontánní oscilace regulovány signály spojenými s fyziologickým stavem dehydratace. Druhým analyzovaným typem dynamiky jsou Ca²⁺ odpovědi indukované depolarizací buněčné membrány. Zde se analýza zaměřila zejména na roli vnitrobuněčných zásobníků Ca²⁺, a ukázala výraznou modulaci/adaptaci intenzity odpovědi v závislosti na momentálním stavu zaplnění těchto zásobníků. Signální mechanismy, které byly v disertaci objasněny na základě experimentů na izolovaných neuronech, mohou hrát významnou roli při autoregulaci sekrece vazopresinu a oxytocinu in vivo.

Disertace je založena především na dvou článcích již publikovaných v časopise Cell Calcium (IF 3.932), a na třetím článku v pokročilém stadiu přípravy. Ve všech těchto článcích je Ing. Kortus zcela zaslouženě prvním autorem, s hlavním podílem jak na experimentálních měřeních, tak na výpočetní analýze dat. Navíc publikoval, coby spoluautor, další článek věnovaný vápníkové signalizaci v kmenových buňkách. Mimoto je prvním autorem několika abstraktů ve sbornících mezinárodních konferencí, kde byly prezentovány výsledky popsány v disertaci.

Mezi osobními kvalitami doktoranda, které se během práce na disertaci plně projeví, bych chtěl vyzdvihnout jeho samostatnost a spolehlivost. Postupně si osvojil opravdu širokou řadu potřebných metodik, od disekce mozkové tkáně a izolace neuronů přes techniky fluorescenční mikroskopie až po výpočetní metody. Celková doba trvání doktorského studia byla ovlivněna dvěma faktory. Prvním bylo

rozhodnutí doktoranda (v souvislosti s rodinnou situací) nastoupit na místo biomedicínského inženýra v Oblastní nemocnici Příbram, kde působil nejprve na plný a poté částečný úvazek v letech 2017 a 2018. V tomto období byl pokrok v práci na disertaci pochopitelně zpomalen. Druhým faktorem byl odchod konzultanta disertace dr. Dayanithiho z Ústavu experimentální medicíny v roce 2018, a následné rozpuštění oddělení, kde doktorand prováděl experimenty. V této nelehké situaci Ing. Kortus zcela samostatně dokončil veškerá potřebná měření, a následně úspěšně přešel do jiného oddělení v tomto ústavu, kde nyní zahajuje činnost coby vědecko-technický pracovník na plný úvazek.

Výsledky dosažené v průběhu studia i samotná disertace prokazují, že kandidát je kvalifikován k samostatné tvořivé vědecké práci. Jsou také splněny veškeré formální nároky, včetně dvou původních prvoautorských publikací s kombinovaným impakt faktorem 7.864. Disertaci doporučuji k obhajobě.

RNDr. Martin Zápotocký, Ph.D.

Fyziologický ústav AVČR
Víteňská 1083, 14220 Praha 4
zapotocky@biomed.cas.cz