

Posudek oponenta na disertační práci Mgr. Mária Heleše Úloha modulace nociceptivního synaptického přenosu.

Práce zabývá studiem mechanismů regulace nociceptivního signálů na buněčné a synaptické úrovni při kombinovaném vlivu opioidních receptorů, TRPV1 receptorů a vlivu cytokinů. Snaží se objasnit mechanismus vzniku neuropatické bolesti vyvolané cytostatikem paclitaxelem. Je napsána v plné formě anglicky, obrázky a grafy mají vynikající grafickou úroveň. Má 103 stran, 268 položek literatury a jako přílohy jsou uvedeny tři publikace autora. Práce má standardní členění.

Obsáhlý teoretický úvod shrnuje současný stav informací o přenosu bolestivého signálu od primárních nociceptivních neuronů v zadních rozích míšních přes míchu až do mozku. Dále jsou probrány mechanismy vzniku chronické a neuropatické bolesti. Receptory TRPV1 jsou rozebrány podrobně z hlediska struktury, jejich regulace a jejich zapojení ve zpracování nociceptivního signálu. Popsána je role TRPV1 receptorů a jejich senzitivizace při vzniku patologické bolesti. Role chemokinů a receptorů pro ně v regulaci nocicepce je zpracována v další kapitole. Zdůrazněna je role opioidních receptorů při potlačování bolesti, ale i v jejich patologické roli, kdy opioidy mohou vyvolávat hyperalgezi.

Cíle práce jsou stanoveny jasně.

Ke splnění cílů autor využil širokou škálu metod. Klíčovou je metoda snímání synaptické aktivity na míšních řezech pomocí metody terčíkového zámku. Byly měřeny změny v miniaturních i evokovaných postsynaptických proudech po aplikaci farmak působících na opioidní receptory, TRPV1 receptory a vlivem chemokinů CCL2. Tato metoda byla doplněna behaviorální metodou měření latence odtahnutí tlapy potkana při bolestivém podnětu, která přímo monitoruje citlivost k bolestivým podnětům na úrovni celého organismu. Na tomto modelu byly studovány účinky farmak při intratekálním podání roztoku látek implantovanou kanylou přímo na míchu.

Imunohistochemickým stanovováním změn ve fosforylaci aktinu v buňkách zadních kořenů míšních a přítomnosti makrofágů byla mapována buněčná lokalizace a rozsah změn.

Dosažené výsledky ukazují propojení funkce opioidních receptorů v potlačení nociceptivního signálu s funkcí chemokinů CCL2 a TRPV1 receptorů. Chemokin CCL2 potlačuje funkci opioidního agonisty DAMGO jak na úrovni elektrického signálu v zadních rozích míšních, tak na úrovni citlivosti celého zvířete - potkana na bolestivé tepelné podněty. Endogenní agonista TRPV1 receptoru OLDA potlačuje desenzitivaci μ -opioidních receptorů vyvolanou agonistou. Aktivace TRPV1 receptorů také brání účinku cytokinu CCL2 na činnost μ -opioidních receptorů. K objasnění mechanismu vzniku cytostatikem paclitaxelem vyvolané hyperalgezie přispělo zjištění změn ve fosforylaci aktinu.

Diskuse získaných výsledků je přiměřená a vytčené cíle práce byly splněny.

Experimentální výsledky, na kterých je práce založena byly již publikovány ve třech publikacích autora. Protože práce prošly náročným recenzním řízením v mezinárodních vědeckých časopisech, nejsou pochybnosti o závažnosti tématu, vhodnosti použitých metod a aktuálnosti dosažených výsledků. Autor prokázal schopnost samostatné vědecké práce a proto doporučuji aby práce byla přijata k obhajobě a autorovi byl udělen titul PhD.

V Praze dne 14.11.2022

RNDr. Jan Krůšek, CSc.

Otázky:

1) Byly při studiu evokovaných EPSC pozorovány kromě změn amplitudy signálu, pozorovány i změny v latenci vyvolané například působením chemokinu CCL2?

2) Minocyclin je známý nejen jako inhibitor aktivace mikroglíí, ale také jako antibiotikum a inhibitor činnosti makrofágů. Připadají v úvahu i jeho přímé účinky na DRG neurony bez zprostředkování přes mikroglie?

3) Ukazujete vliv současné dlouhodobé preaplikace endogenního agonisty TRPV1 OLDA a MOR agonisty DAMGO na desenzitizaci MOR. Jaké účinky na miniaturní potenciály by měla akutní aplikace obou látek současně? Jaké účinky na odpověď na DAMGO by měla dlouhodobá preinkubace jen s OLDA?