

Oponentský posudek

doktorské disertační práce RNDr. Jiřího Lindovského

Interakce vazebných míst přirozených a mutovaných nikotinových receptorů s ligandy

Oponovaná disertace byla vypracována na Oddělení buněčné neurofyzilogie Fyziologického ústavu AV ČR a Přírodovědecké fakultě UK v Praze jako kvalifikační práce k získání titulu PhD. Disertační práce má formu uceleného rukopisu a je věnována fyziologicky významné skupině acetylcholinových receptorů nikotinového typu, které patří mezi iontové kanály ovládané pomocí navázání ligandů na vazebné místo. Je popsána struktura a funkce těchto receptorů, jejich podjednotková molekulární stavba a její prostorové uspořádání, zabudování receptoru do membrány a vazebná místa pro agonisty a antagonisty. Velká pozornost je věnována nejnovějším poznatkům o tom, jak je pomocí ligandů ovládán průduch či branka (gate) receptoru, kterým je vodivě propojen intracelulární a extracelulární prostor buňky pro malé ionty a jak je možné vlastnosti tohoto kanálu ovlivnit bodovými mutacemi pro některé aminokyseliny. Pozornost je věnována také matematickému modelování činnosti receptoru typu iontového kanálu, jehož cílem je nalézt model, který by při minimu experimentálně naměřených číselných parametrů maximálně přesně vystihoval vztah mezi koncentrací ligandů a fyziologické odpovědi celé buňky, v níž je vždy přítomná více či méně pestrá populace receptorů. Protože s acetylcholinovými receptory interaguje velké množství strukturně často velmi odlišných látek, je podán stručný přehled o nejvýznamnějších agonistech, antagonistech a modulátorech funkce nikotinových receptorů. Nechybí ani zmínka o inhibitech cholinesteráz, které tím že blokují hydrolýzu acetylcholinu, působí jako nepřímí agonisté. Tyto látky našly praktické uplatnění v medicíně jako léčiva neurodegenerativních poruch spojených s nedostatečnou funkcí cholinergního přenosu.

Disertační práce má 101 stran a sestává z literárního přehledu (cca 30 stran), který poskytuje uspokojivý obraz současného stavu autorem studované problematiky. Experimentální část stručně popisuje v práci použité metodiky, tj. postupy elektrofyziologických měření, práci s buněčnými kulturami a molekulárně biologické metody použité pro vnášení bodových mutací do DNA podjednotek nikotinového receptoru.

Významnou částí disertace je její experimentální část, jejímž cílem je studovat pomocí bodových mutací význam záporně nabitých aminokyselin v tzv. F-kličkách podjednotek nikotinového receptoru a popsat účinek dvou nových látek na některé významné typy nikotinových receptorů. Jednou z těchto látek je inhibitor cholinesteráz označovaný jako C-547 a druhou inhibitor rodiny cytochromu P450 zvaný proadifen. U látky C-547 bylo sledováno, zda kromě inhibičního účinku na cholinesterázy vykazuje také přímý účinek na nikotinové receptory a u proadifenu byl učiněn pokus o modulaci desensitizace mozkových nikotinových receptorů typu $\alpha 3\beta 4$, protože v této oblasti existují rozporuplné výsledky.

Výsledky práce jsou prezentovány formou přehledných grafů a tabulek v rozsahu 19 stran. Část výsledků již byla publikována v práci Lindovský et al.: Role of

negatively charged amino acids in beta4 F-loop in activation and desensitization of alpha3beta4 rat neuronal nicotinic receptors. Biochim Biophys Acta 2008; 1778(4): 864-871, ve vědeckém časopise s IF = 4.893 (2008) a také další části práce jsou vhodné pro publikaci ve vědeckém časopise, čímž je splněna podmínka pro úspěšné obhájení doktorské dizertace, vyplývající z § 47 odst. 4 zákona o vysokých školách. Diskuse a závěry vhodně doplňují výsledkovou část práce, srovnávají ji s pracemi jiných autorů a dokládají, že cíle práce byly splněny v plném rozsahu. Závěrečnou částí práce je seznam použité literatury. Zahrnuje práce vztahující se ke studované problematice, včetně prací recentních.

Oponovaná disertace má vyvážený obsah, bez zjevných formálních či věcných nedostatků. Je napsána stručně, jasně a srozumitelně. Po vědecké stránce přináší nové výsledky, z nichž část již byla publikována v časopise s vysokým IF. K práci nemám žádné připomínky a mám jen jeden dotaz: mohou být skutečnosti nalezené při interakci proadifenu s nikotinovým receptorem nějakým způsobem významné i pro jeho interakci s glibenclamid-senzitivními K⁺-kanály myocytů?

Závěr: Oponovaná práce RNDr. Jiřího Lindovského splňuje v plném rozsahu požadavky kladené na disertační práci. Dokládá schopnost autora úspěšně řešit složité vědecké problémy, využívat k tomu nejmodernější metody a přístupy a výsledky vhodnou formou prezentovat. Má nejen hodnotu jako kvalifikační spis, ale má i značný vědecký přínos. Doporučuji ji proto přijmout jako podklad k dalšímu řízení k získání titulu PhD.

Prof. RNDr. Jiří Patočka, DrSc.
Katedra radiologie a toxikologie
Zdravotně sociální fakulta
Jihočeské univerzity
v Českých Budějovicích

V Hradci Králové, 22. 3. 2010