

Posudek na doktorandskou disertační práci Mgr. Petry Mrózkové nazvanou
THE ROLE OF TRPV1 RECEPTORS IN NOCICEPTIVE SIGNALLING AT SPINAL
CORD LEVEL

Předložená disertační práce Mgr. Mrózkové zaměřená na studium úlohy nociceptivních TRPV1 receptorů byla vypracována na základě výsledků získaných v průběhu jejího doktorandského studia a experimentální práce na Fyziologickém ústavu AV ČR v Praze. Vlastní disertační práce vychází z výsledků publikovaných ve třech prestižních mezinárodních časopisech s vysokým impakt faktorem (Neuropharmacology, IF 5.104; J. Neurosci., IF 6.344; PLoS One, IF 3.234). Kopie všech těchto článků jsou in extenso přiloženy k disertační práci a přiložen je také souborný článek vztahující se k problematice této práce publikovaný v časopise Physiol. Res. (IF 1.643).

Bolest může být příznakem tělesného poškození nebo různých nemocí, ale za určitých okolností se může stát patologickým stavem sama o sobě. Je proto důležité hledat vhodné účinné prostředky pro tlumení bolesti, a k tomu může přispět i zlepšování našeho porozumění mechanismům, které hrají roli při manifestaci bolesti. Výzkumu nociceptivní signalizace je proto oprávněně věnována velká pozornost a zvolené téma disertační předložené práce zaměřené na zkoumání role TRPV1 kanálů v přenosu bolestivých signálů na míšní úrovni je velmi aktuální. Pochopení širších souvislostí v modulaci synaptického přenosu v neuronech zadních kořenů míšních může být užitečné pro budoucí vývoj nových farmak selektivně ovlivňujících vybrané komponenty nociceptivní signalizace.

Vlastní disertační práce je napsána anglicky, což je třeba ocenit, a po jazykové i formální stránce nelze mít k práci prakticky žádné zásadní výhrady. Práce je přehledně rozčleněna do několika hlavních kapitol a je zpracována velmi pečlivě, včetně vhodných ilustrativních schemat a obrázků. Úvodní teoretické část (asi 40 stran) poskytuje obsáhlý přehled současných poznatků o bolesti a širších fyziologických souvislostech tohoto fenoménu. Velká pozornost je věnována detailní charakteristice TRPV1 receptorů, ale také popisu glutamátových receptorů, PAR2 receptorů, CCL2 receptorů a TLR4 receptorů a jejich možnému významu v mechanismech modulace synaptické aktivity. Jednotlivé části textu na sebe logicky navazují a obsahují velké množství relevantních informací získaných zejména v období posledních asi dvou desetiletí.

Cíle disertační práce byly jasně definovány a tomu odpovídají i zvolené metody, které jsou přiměřeným způsobem popsány v samostatné kapitole. Přehledný popis hlavních výsledků je předložen v rozsahu 12 stran a tyto výsledky jsou poté v kontextu odpovídajícím současnému poznání řádně diskutovány v rámci kapitoly Discussion (celkem 9 stran). Stručný souhrn výsledků a závěry práce jsou poskytnuty na konci hlavní textové části práce.

Pro svoji experimentální práci založenou na používání metody terčíkového zámku nebo imunohistochemických technik autorka připravovala preparáty míchy z mladých potkanů kmene Wistar, ale prováděla také behaviorální testování zvířat (pomocí plantar testu nebo von Freyových vláken). Svými výsledky autorka potvrdila důležitost TRPV1 receptorů v modulaci nociceptivního přenosu v superficiální oblasti zadního rohu míšního. Podařilo se jí mj. zjistit, že chemokin CCL2 může aktivovat míšní TRPV1 receptory a podílet se tak na

modulaci nociceptivní signalizace. Hlavní pozornost však byla věnována především zkoumání úlohy proteázou aktivovaných receptorů typu 2 (PAR2). Bylo zjištěno, že aktivace těchto receptorů snižuje frekvenci miniaturních excitačních postsynaptických proudů (mEPSC) a vyvolává nárůst frekvence spontánních excitačních postsynaptických proudů (sEPSC) a amplitudy evokovaných excitačních postsynaptických proudů (EPSC). Z těchto pozorování lze vyvozovat, že PAR2 receptory mohou mít významnou roli v modulaci nociceptivního přenosu. Dalším neméně zajímavým poznatkem bylo zjištění, že aktivace TLR4 receptoru paclitaxelem vede k sensitizaci centrálních TRPV1 receptorů, což by mohlo přispívat k vyvolání akutní i chronické neuropatie. Autoři se tedy podařilo získat celou řadu nových zajímavých výsledků a prakticky splnit všechny hlavní záměry práce.

Otázky do diskuse:

1. Co je známo o mechanismech vzniku a progresu chronické neuropatické bolesti? Jakým způsobem může docházet k sensitizaci (periferní a centrální) nociceptivního systému? Jaké jsou strategie léčby a současné možnosti tlumení perzistentních bolestivých stavů?
2. U popisu obr. 8 (str. 48) chybí vysvětlení zkratky EET. Zřejmě se jedná o epoxyeikosatrienovou kyselinu, která může vykazovat antihyperalgezické účinky (Nature Rev. Immunol. 15:511-523, 2015 – Tab. 1). Jakým způsobem by to mohlo fungovat? Předpokládáte zapojení této molekuly v účincích aktivovaného PAR2 receptoru na funkci TRPV1 receptoru, který se patrně podílí na zvýšení frekvence sEPSC v důsledku působení peptidu SLIGKV-NH2 (str. 68)? Mohla by EET ovlivňovat funkci jiných iontových kanálů v neuronech? Působí EET na cílové receptory z vnitřní nebo spíše z vnější strany buněčné membrány? Je možné předpokládat, že by excitabilita neuronů (funkce jejich iontových kanálů) případně mohla být modulována produkty metabolismu eikosanoidů jiných typů buněk?

Závěrem lze shrnout, že předložená disertační práce má výbornou úroveň, a to jak po formální tak i po obsahové stránce. Vypracováním této práce Mgr. Mrózková jednoznačně prokázala, že se výborně orientuje v dané problematice, že je schopna prakticky provádět náročné vědecké experimenty, a také že umí výsledky těchto experimentů náležitým způsobem vyhodnotit a zpracovat. Autorka během své práce evidentně získala řadu praktických zkušeností s použitím různých imunohistochemických a elektrofyziologických technik a také s prováděním některých behaviorálních testů používaných při výzkumu bolesti. Závěrem lze tedy konstatovat, že disertační práce svojí kvalitou zcela splňuje všechny požadavky kladené na tento typ práce a proto doporučuji, aby Mgr. Mrózkové byl po úspěšné obhajobě udělen titul Ph.D.

V Praze 8.3.2017

RNDr. Jiří Novotný, DSc.
Katedra fyziologie
Přírodovědecká fakulta UK v Praze