

Posudek na diplomovou práci Bc. Petry Mrózkové „Modulace synaptického přenosu, studium na míšních řezech *in vitro*“.

Předkládaná práce má 106 stran textu a standardní členění. Zabývá se studiem mechanismu přenosu bolestivého signálu v míšních řízcích laboratorního potkana metodou sledování změn vnitrobuněčného vápníku pomocí mikrospektrofluorimetrie. Literární přehled shrnuje informace o čtyřech propojených tématech: přenos a zpracování bolestivého signálu, typy a role glutamátových receptorů, funkce TRPV1 receptorů a role změn koncentrace vnitrobuněčného vápníku v neuronech.

Z uvedených informací o synaptickém přenosu vyplynuly cíle práce, které jsou stanoveny jasně. V kapitole Metody jsou uvedeny kromě seznamu chemikálií a použitých roztoků zejména popisy metod přípravy míšních řezů, barvení buněk fluorescenční sondou, postup fluorescenčního pokusu, stimulace buněk a zpracování dat.

Výsledky experimentů ukázaly, že model míšního řezu umožňuje dlouhodobé stabilní snímání vápníkových odpovědí na elektrickou stimulaci zadního míšního kořene. Byly pozorovány dva typy vápníkových odpovědí, rychlé a pomalé, které se liší svým mechanismem. Byla studována farmakologie obou typů odpovědí. Inhibitor AMPA podtypu glutamátových receptorů CNQX vyvolával vratnou inhibici vápníkových odpovědí zatímco inhibitor NMDA podtypu receptorů MK801 vyvolával jen částečně vratnou inhibici. Aplikace účinných koncentrací kapsaicinu vyvolávala nevratný pokles vápníkové odpovědi. Aplikace dalších látek, jako je TNF α , PMA a bradykinin vyvolávala jen mnohem menší změny odpovědí.

V poměrně rozsáhlé diskusi jsou získané výsledky porovnány s dříve používanou metodou na konfokálním mikroskopu a jsou podrobně rozebrány různé mechanismy, které mohou vysvětlit pozorované závislosti. Zajímavým výsledkem je, že aplikace kapsaicinu vedla jen u velmi malého počtu buněk k očekávané senzitivizaci. Objasnění převahy inhibičních účinků bude předmětem dalšího studia. Zadané cíle práce byly splněny a byla zavedena a odzkoušena experimentální technika vhodná ke studiu modulace míšního synaptického přenosu.

Celá práce je napsána přehledně a srozumitelně, grafická úprava obrázků, schémat a grafů je pěkná, jen je škoda, že nebyla věnována větší péče konečné úpravě textu a odstranění četných překlepů a chyb.

Drobné nedostatky v textu byly již s autorkou prodiskutovány a z textu vyplynulo několik otázek, které nijak nesnižují vysokou úroveň výsledků předkládané práce, kterou navrhuji hodnotit nejvyšším stupněm.

RNDr. Jan Krůšek CSc.

V Praze 25.5. 2011

Připomínky a otázky:

V úvaze o endogenních vápníkových pufrech je nepřesně popsán jejich vliv na vápníkové odpovědi. Je uvedeno, že snížení koncentrace vnitrobuněčných vápníkových pufrů vede ke zkrácení vápníkové odpovědi a naopak zvýšení pufrů vede k prodloužení odpovědi. Správněji by mělo být, že snížení vede ke zkrácení latence odpovědi a zvýšení vede k opoždění vápníkové odpovědi.

Ve výsledkové části jsou číselné údaje o změnách uvedeny s přehnanou přesností vzhledem k přesnosti experimentální metody.

Jaký je přirozený mechanismus aktivace centrálních TRPV1 receptorů?

Po aplikaci kapsaicinu došlo k snížení vápníkových odpovědí na elektrickou stimulaci. Není možné tento efekt alespoň částečně vysvětlit tím, že odpovědi po kapsaicinu se vyhodnocují vzhledem k pravděpodobně zvýšené bazální hodnotě?

Přestože vlastní měření vápníkové odpovědi je pomalejší než děje na synapsi, bylo by možné využít preparát míšních řezů k podrobnějšímu studiu synaptického přenosu?