

Oponentský posudek

na

dizertační práci

Expression and functional characterization of transient receptor potential vanilloid-related channel 4 (TRPV4) in hippocampal astrocytes after ischemia/reperfusion.

Posuzovaná dizertační práce je věnována aktuálnímu a nosnému tématu. Kandidátka se pod vedením zkušených experimentátorů zaměřila na rozšíření poznatků o patofyziologické roli TRPV4 kanálů, které jsou důležité při rozvoji patogenních dějů vyvolaných mozkovou hypoxií.

Mgr. O. Butenko se věnuje výzkumu role astroglie systematicky a dlouhodobě, což dokládají připojené původní práce, přičemž jednou je prvou autorkou.

Zvolené téma je důležité jak pro neurovědní výzkum, tak pro klinické neurovědní obory. Nové poznatky o protektivní, adaptivní, metabolické i destruktivní roli gliových buněk, jež byly kandidátkou rozšířeny výzkumem exprese TRPV4 v hipokampální astroglii, jsou originální. Přinášejí nové poznatky o roli TRPV4 kanálů a vápníkových iontů pro signalizaci reaktivních astrocytů v hipokampu, a to nejen dospělého potkana.

Práce, mající 132 stran a 6 příloh, je členěna přehledně.

V úvodu, majícím 33 stránek, je podán přehled nejdůležitějších poznatků o astrocytech, jejich morfologii a funkci. Je popsána role astrocytů jak ve fyziologických, tak patologických dějích se zaměřením na lokální a celkovou mozkovou ischemii. Výstižně je popsána struktura a funkce TRPV kanálů.

Cíle posuzované práce byly zvoleny jasně. Experimentální práce byla v souladu s pěti uvedenými cíli zaměřena na sledování změn, které byly vyvolány mozkovou hypoxií a ischemií, navozenými hypoxickou ventilací a okluzí karotid.

Zvolená metodika, která je metodologicky velmi náročná, je popsána přesně a srozumitelně. Hypoxie a ischemie mozkové (H/I) byly vyvolány kombinací uzávěru hlavních karotid a hypoxickou ventilací.

Metodika výzkumu byla založena kvalitně a široce. Výzkum byl prováděn na dospělých potkaních samcích, tvořících jak skupinu vystavenou H/I zátěži, tak kontrolní skupinu, u níž

byly hlavní karotidy vypreparovány, nebyly však uzavřeny. Následně byla pokusná zvířata, vystavená 15 minut trvající nedokrevnosti mozku, rozdělena do pěti skupin a v různých časových intervalech byla usmrcena. Vzorky hipokampální tkáně byly zkoumány metodologicky a časově náročnou kombinací strukturálně i funkčně zaměřených metod. Byly vyšetřeny histochemicky, mikrofluorometricky, metodou patch-clamp, imunochemicky, metodou Western-blott a kvantitativní PCR analýzou.

Výsledky takto získané prokázaly na základě exprese Nestinu imunoreaktivní změny, podmíněné reaktivními astrocyty. Důležité jsou především poznatky o zvýšené expresi TRPV4 kanálů u astrocytů v CA1 oblasti hippokampu. Významné je zjištění o vztahu těchto změn k rozvoji astrogliózy. Pro lepší pochopení dějů rozvíjejících se při reperfúzi hypoxické či ischemické mozkové tkáně je cenný průkaz nárůstu TRPV4 - specifické odpovědi astrocytů.

Předložená práce přinesla nová fakta o důležité roli TRPV4 kanálu pro vápníkovými ionty zprostředkovanou signální aktivitu reaktivních hipokampálních astrocytů. Lze uvažovat o jejich spolupodílu na patogenních dějích rozvíjejících se po mozkové hypoxii, což přispívá v širším kontextu i k objasnění patofyziologie cévních mozkových příhod.

Význam práce je podle názoru oponenta z pohledu klinického neurologa nepochybný, protože přináší původní poznatky rozšiřující znalosti o regulaci různorodé funkce astrocytů. Astroglie má klíčovou roli v protektivních a reparativních pochodech, které navazují na poškození mozkové tkáně. Jedná se o kvalitní práci odpovídající vysokému, mezinárodně uznávanému standardu pracovišť, na nichž kandidátka svůj výzkum prováděla a týmů, jejichž byla členkou.

Připojené publikace jsou kvalitní a byly přijaty uznávanými odbornými periodiky s IF od 1,65 do 4,04.

Na základě výše uvedených skutečností oponent uvádí, že

posuzovaná dizertační práce je kvalitní a potvrzuje předpoklady autorky k samostatné vědecké práci, a proto doporučuje udělit titul Ph.D..

Praha, 2.4. 2014

doc. MUDr. M. Bojar, CSc.

Otázky pro kandidátku

- 1) Jaké metodiky kandidátka v rámci náročného výzkumu zvládla a sama vykonávala?
- 2) Jaké jsou podle jejích zkušeností z experimentu možnosti podpory neuroprotektivní funkce astrocytů?