

Posudek školitele na doktorskou disertační práci Ing. Miroslavy Vošahlíkové s názvem:

**„Modulační vliv monovalentních iontů na  $\delta$ -opioidní receptory“**

Ing. Miroslava Vošahlíková předložila doktorskou disertační práci, ve které shrnula výsledky, které získala během svého doktorandského studia v oboru Biochemie a patobiochemie, kdy se věnovala výzkumu role opioidních receptorů v drogové závislosti a také studovala způsob, jakým jsou tyto receptory ovlivňovány monovalentními ionty. Jedná se o pečlivě připravený česky psaný text v celkovém rozsahu 67 stran, který je dělen na úvod, literární přehled, cíle práce, výsledky a diskusi, závěr, celkové shrnutí a seznam použité literatury. V přílohách jsou připojeny čtyři původní práce autorky *in extenso*, na jejichž základě byla práce sepsána. Disertační práce prošla úspěšně vnitřní obhajobou v rámci Fyziologického ústavu, která se konala 3. dubna 2014 (předseda komise prof. František Kolář, DrSc.). Za zmínku stojí zajisté také fakt, že Ing. Vošahlíková je spoluautorkou dalších tří prací, které byly také publikovány v kvalitních vědeckých časopisech. Tyto výsledky nebyly zařazeny do disertační práce, je však třeba se o nich zmínit pro získání celkového obrazu o šíři vědecké průpravy Ing. Vošahlíkové.

Disertační práce se v první části zabývá studiem mechanismu dlouhodobého působení morfinu. Studium mechanismů drogové závislosti je v dnešní době zvláště aktuálním tématem. Závislost na předepisovaných opioidech je jednou z nejzávažnějších forem drogové adikce. Výsledky této části práce ukázaly, že mechanismus závislosti na morfinu je založen na desensibilizaci  $\mu$ - a  $\delta$ -opioidních receptorů, která probíhá již na úrovni funkční aktivity G proteinů. Současně dochází k hyper-sensibilizaci enzymu adenylcyklázy (AC), které se projevuje jako specifické zvýšení isoform ACI a ACII v plasmatických membránách izolovaných z frontální mozkové kůry potkanů ovlivněných morfinem a že tato odpověď nastává jako specifická, kompenzační (plně vratná) odpověď na dlouhodobé působení této drogy. Dlouhodobé působení morfinu mělo dále za následek zvýšení počtu  $\delta$ -opioidních receptorů a změnu jejich citlivosti k sodným iontům.

Druhá část disertační práce je věnována mechanismu působení monovalentních iontů, které významně ovlivňují biologickou odpověď iniciovanou receptory spřaženými s G proteiny (GPCRs). Konkrétně byl analysován vliv monovalentních iontů na  $\delta$ -opioidní receptor i na jeho funkční spřažení s trimerními G proteiny. K tomuto účelu byla použita buněčná linie HEK293 stabilně exprimující fúzní protein  $\delta$ -opioidního receptoru a  $\alpha$ -podjednotky  $G_{i1}$  proteinu ( $\delta$ -OR- $G_{i1\alpha}$ ). I přesto, že byly interakce monovalentních iontů se

signální kaskádou iniciovanou opioidními receptory studovány již od počátku výzkumu zaměřeného na GPCRs, jejich detailní mechanismus působení není přesně znám. Největší význam této části práce spočívá zejména v rozlišení vysoko- a nízkoafinních vazebných míst pro  $\text{Na}^+$ , která nebyla doposud publikována. Biofyzikální analýsa interakce iontů lithia, sodíku, draslíku a cesia s plasmatickou membránou buněk HEK293 s pomocí fluorescenčních technik ukázala na význam polárních skupin přítomných v povrchové vrstvě membrány. Právě do této oblasti je možno lokalizovat vazebná místa s nízkou afinitou.

Ing. Miroslava Vošahlíková vypracovala svou disertační práci samostatně. Hluboký zájem autorky o vlastní podstatu studovaného problému se snoubí s nebývalou péčí, technickou zručností, vytrvalostí a zaujetím pro experimentální práci. Vedle vědeckých schopností Ing. Vošahlíkové je třeba ocenit i její osobní vlastnosti, které ji předurčují být dobrým vědeckým pracovníkem i nosným členem každého pracovního týmu. Další působení Ing. Vošahlíkové v našich laboratořích bude jistě přínosem pro Fyziologický ústav AV ČR.

Závěrem bych chtěl konstatovat, že předložená disertační práce jasně prokazuje předpoklady autorky k samostatné tvořivé vědecké práci a splňuje všechna kritéria a ustanovení k udělení titulu PhD.

Dne 10.4. 2014



Doc. RNDr. Petr Svoboda, DrSc.

Školitel