

Posudek na dizertační doktorskou práci Mgr. Lucie Zímové rozené Suré, školitelka RNDr. Viktorie Vlachová, DrSc.

Práce má název: **Význam nabitých reziduí pro aktivaci a modulaci iontového kanálu TRPA1.**

Práce je zpracována na 54 stranách a je doložena 4 významnými publikacemi ve vysoce impaktovaných časopisech. Proto je úloha oponenta ulehčena, neboť všechny výsledky prošly již velmi přísným peer review v mezinárodních impaktovaných časopisech. Navíc autorka shrnula své předchozí poznatky také v přehledných pracích, mezi něž můžeme započítat i přehlednou práci v českém časopise Bolest. Autorka řeší otázku velmi důležitého iontového kanálu TRPA1, který patří mezi základní strukturální jednotky percepce bolesti vedle především kanálů TRPV1. Kanál TRPA1 je důležitý proto, že je exprimovaný na periferních zakončeních nociceptivních neuronů. Je významný, protože tvoří fyzikálně chemickou podstatu signalizace bolestivých podnětů.

Studie se zabývá molekulární úrovní těchto kanálů a jejich možného ovlivnění. Původním nálezem je C koncová cytoplazmatická doména TRPA1 receptoru. Autorka se svými spolupracovníky popsala vazebné místo pro vápník, který je nejdůležitějším modulátorem TRPA1. Autoři a to je velmi cenné, navrhli hypotézu, která vysvětluje molekulární podstatu dědičného bolestivého syndromu, který byl způsoben změnou bodové mutace TRPA1. Další významný a primární nález je popis aminokyselin na proximálním C konci v oblasti transmembránové domény, která se podílí na napěťové aktivaci.

Autorka ve svém úvodu velice podrobně rozebírá molekulárně biologickou podstatu TRPA kanálů a také úlohu vápníkových proudů a vůbec vápníkového posunu. Co se týče popisu bolesti a jejich mechanismů autorka Wolfova použila hlavně rozdělení, kde rozděluje správně nociceptivní bolest ale pak má ještě bolest inflamační a patologickou. V našich monografiích Bolest vydaných v letech 2006 a 2012 let se spíše držíme rozdělení Lindbloma z roku 1993, které je všeobecně akceptováno. Bolest je rozdělena na nociceptivní a neurogenní tzn. neuropatickou. Inflamační bolest může být především nociceptivní, ale může být také někdy i neuropatická.

Velmi cenná je studie u neuropatické bolesti kde TRPA receptory hrají základní roli. Bylo to prokázáno i pomocí jejich agonistů nebo antagonistů. Ukazuje se, že TRPA1 antagonisté signifikantně snižují alodynii a hyperalgezi. TRPA receptor je důležitým hráčem u různých typů chronických zánětlivých bolestí. To je v souvislosti u neurotické bolesti, která je velmi častá u diabetes mellitus, kterým dnes trpí téměř 10 % české populace a také u renálního selhání. Je to vázáno na látku, která jmenuje methylglyoxal, který byl identifikován na TRPA.

Důležitá je také poznámka autorky o úloze těchto kanálů při astmatu, jakožto zánětlivém onemocnění. Když se podávaly antagonisté TRPA1, tak se snížily astmatické odpovědi, snížila se frekvence kašle a i jeho intenzita. TRPA1 působí tedy i na alergická onemocnění.

Velmi záslužné je, že autorka také rozebírá dědičné následky a jak již bylo uvedeno zabývá se dědičnou úlohou bolestivé informace u dědičných bolestivých fenoménů.

V další části práce autorka rozebírá ankyrinové jednotky TRPA kanálů velmi podrobně. Je to krásná práce, která by stála za publikaci v některém časopise například i v časopise Bolest. Velmi podrobně je popsána i TRPA exprese a aktivace. Krásná je tabulka selekce TRPA agonistů. Důležitou částí je popis vztahu mezi TRPA a kalcium, což si dala autorka za úkol.

Autorka má popsány cíle práce, bohužel nejsou popsány hypotézy, i když z cílů práce a z předchozího popisu vyplývají, ale nejsou v práci explicitně vyjádřeny.

Obdivuhodná je šíře použitých metod. Jsou to vynikající naprosto špičkové metody, jak biochemické, tak fyzikálně chemické. Vynikající je elektrofyziologická metoda patch clamp, dále měření fluorescence. Velmi důležitá je analýza elektrofyziologických dat, zejména vztahu kalcia k TRPA kanálům.

Hlavní cíl práce byl soustředěn na C terminály a všechny jejich možné následky a důsledky různých aspektů, které jsme již popsali.

Je důležité, že tato práce má svůj částečný vědecký výstup. Jak autorka sama cituje v roce 2014 byl TRPA1 antagonist GRC 17 536 byla dokončena studie fáze 2 pro léčení diabetické neuropatie, což je velmi pozitivní výsledek. Praktické výsledky z této základní studie by šly využít i při charakterizaci C terminus a modulace kalciovými ionty by šla také prakticky využít.

Autoři ukázali, že cluster E 1777 až D1082 velmi zásadně participují na modulaci TRPA1 kanálů kalcium. Může být přímým vazebním místem pro kalcium. TRPA1 kanály mohou strukturálně vysvětlovat TRPA1 genově vázaná onemocnění.

Lze uzavřít, že i tato vysoce základní a kvalitní práce má možný praktický výstup do klinické praxe.

Práce je napsaná velice dobrou angličtinou. Našel jsem v práci pouze dva drobné překlepy. Má dostatečný počet citací snad s výjimkou citace české monografie o bolesti. Je doložena 4 vysoce impaktovanými pracemi a ještě dalšími 2 přehlednými pracemi. Bylo by dobře také napsat výši impaktu těchto prací v době, kdy byly publikovány. Celá práce svědčí o tom, že autorka má vynikající literární přehled, pracovala se špičkovými elektrofyziologickými a fyzikálně-chemickými metodami. Její práce má to i praktický výstup.

K práci mám 2 otázky:

1. Jakým dalším směrem se bude ubírat základní výzkumu v této oblasti?
2. Máte nějakou připravenou vazbu na eventuelní propozici na klinické studie. Určitě by stálo zato některé prvky zkusit v některých oblastech neuropatické bolesti.

Závěr: Autorka prokázala, že má vynikající schopnosti pro vědeckou práci, je schopna samostatného uvažování, nastolení otázek a jejich řešení a má vynikající metodickou i literární úroveň.

Na základě všech těchto skutečností doporučuji, aby paní Mgr. Lucii Zimové byl udělen titul Ph.D. za jménem podle § 47 zákona o Vysokých školách č. 111/1998 Sb.

prof. MUDr. Richard Rokyta, DrSc., FCMA

