

# OPONENTSKÝ POSUDEK DISERTAČNÍ PRÁCE

nazvané

## „Studium aktivace a modulace svalových nikotinických acetylcholinových receptorů“

**Autorka disertační práce: Lucie Svobodová**

Předložená disertační práce shrnuje výsledky, které byly otištěny ve čtyřech impaktovaných mezinárodních vědeckých časopisech, konkrétně se jedná o „Biochimica et Biophysica Acta“, „Neuroscience Letters“, „Annals of NY Academy of Sciences USA“ a „Physiological Research“, a další práce je připravena do tisku. Vzhledem k tomu, že články v těchto časopisech procházejí náročným recenzním řízením, považuji za zbytečné se k jejich odborné úrovni vyjadřovat a tím logicky i k úrovni autorčiných výsledků, které lze považovat za původní nálezy. Mám jen několik drobných připomínek k vlastní disertaci:

- 1.) Pochvalu zasluhuje určitě úvod. Je to učebnice biofyziky iontových kanálů pro pokročilé i začátečníky. Autorka však v textu často používá závorek uprostřed věty, text je pak méně plynulý. Většinou lze v těchto případech rozvitou větu oddělit čárkami, což se mi zdá pro odborný text jazykově správnější.
- 2.) Také získané výsledky jsou popisovány s matematickým nadhledem a podrobným vysvětlením pozorovaných změn, schémat a modelů; autorka však často opakuje text z hlavního textu i v textu u obrázků a tím se vysvětlování neprohlubuje, jakoby se stále točí dokola.
- 3.) Jsou-li v obrázcích velká písmena, měla by být také velká v textu k obrázkům, někde tomu tak není (např. u Obr. 2).
- 4.) V kapitole „Cíle práce“ jsou formulovány dvě experimentální otázky, ale výsledková část práce obsahuje tři studie. Mám dojem, že každá studie by mohla mít jedno zadání a každé by mohl být věnován jeden odstavce v kapitole „Diskuse“.
- 5.) V práci chybí vysvětlení, proč je reverzní potenciál pro kanál AChR roven +10 mV, a logické vysvětlení proč bylo snímáno při potenciálu -10 mV, což není fyziologický potenciál, přichází až na straně 59.
- 6.) Diskuse je opět téměř bezchybná a svědčí o dokonalém porozumění studované problematice. Velmi zajímavé výsledky, kterých autorka dosáhla, doplňuje jejich dobře vedená rozvaha a konfrontace s výsledky jiných autorů, kteří získali podobné, ale někdy i odlišné nálezy. Význam diskuze spočívá především v charakterizaci úlohy záporně nabitých aminokyselinových zbytků F-kličky ve funkci AChR, objasnění přímých receptorových účinků anticholinestráz a jejich vliv na desenzitizaci receptoru. Pro čtenáře ze vzdálenějšího oboru však některé otázky zůstávají nezodpovězené, například: (i) Na straně 23 autorka píše, že „...není snadné zjistit, zda je posun aktivací křivky způsoben tím, že modulátor ovlivňuje vazbu agonisty či mění pravděpodobnost otevírání kanálu“. Otázkou zůstává, jakým způsobem je tedy vůbec možné přesně zjistit, zda došlo primárně k účinku na vazbu ligandu nebo na gating? Jakým způsobem to můžeme zjistit u bodových mutací, které také mohou mít účinek na vazbu nebo gating, ale povaha jejich účinku je odlišná od farmaka? (ii) Jinou otázkou je, jakou metodou bylo experimentálně dokázáno, že nAChR v desenzitizovaném stavu má vyšší afinitu k ligandu než receptor nedesenzitizovaný? Existuje tento jev také u jiných ligandem aktivovaných kanálů? (iii) Autorka také píše, že „Rychlost návratu z desenzitizace je ovlivněna koncentrací intracelulárního Ca<sup>2+</sup>“. Znamená to, že nástup do

desensitizace je na Ca<sup>2+</sup> nezávislý? Lze cestu návratu z desensitizace považovat za obrácení cesty do desensitizace?

ZÁVĚR. Není pochyb o tom, že autorka svými původními nálezy významně přispěla k našemu lepšímu chápání cholinergní neurotransmise a to především ve vztahu k nACh receptoru. Svá zjištění shrnula do čtyř publikací otištěných v časopisech s IF, z nich u dvou je i prvním autorem. Předložená disertační práce je uceleným souborem molekulárně neurofyziologických zjištění, která se stávají podnětem pro další studium cholinergního přenosu, od něhož lze očekávat prohloubení naší znalosti o tomto mediátorovém systému a následně i možné farmakologické (a terapeutické) využití. Předložená disertační práce je zpracována velmi kvalitně, využívá moderních molekulárně genetických metodických postupů, přináší nové vědecké poznatky a odpovídá tak požadavkům kladeným na disertační práci tohoto druhu. Lucie Svobodová jako postgraduální studentka oboru „Biofyzika, makromolekulární fyzika“ v ní prokázal nejen schopnost samostatné vědecké práce, ale i schopnost dosažené výsledky zpracovat do publikace, a proto jmenované navrhuji udělit vědeckou hodnost doktor filosofie (Ph.D.).

Praha, 14. května 2009

Vypracovala: RNDr. Hana Zemková, CSc.

Fyziologický ústav AVČR  
Videňská 1083  
142 20 Praha 4  
Tel.: +420-2 4106 2574  
Fax: +420 2 4106 2488  
e-mail: [zemkova@biomed.cas.cz](mailto:zemkova@biomed.cas.cz)