

Oponentský posudek dizertační práce „Mechanismy přenosu signálu muskarinovými receptory“ Mgr. Evy Dolejší

Předložená dizertační práce „Mechanismy přenosu signálu muskarinovými receptory“ Mgr. Evy Dolejší je výsledkem jejího postgraduálního doktorského studia biomedicíny v oboru Fyziologie živočichů. Školitelem byl MUDr. Vladimír Doležal, DrSc. Dizertace byla vypracována v Oddělení neurochemie Fyziologického ústavu AV ČR v Praze. Dizertace má 94 stran textu v češtině plus 72 stran příloh obsahující kopie 3 publikací z let 2011-2013 týkajících se dizertace (z toho dvou s IF 1,5-3,5) kde je mgr. Dolejší (předpokládám jako E. Šantrůčková) uvedena jako první autorka nebo spoluautorka, to vše dohromady ve vázané formě v 1 svazku formátu A4. Vlastní 94 stránkový text dizertace obsahuje na prvních 6 stránkách poděkování a prohlášení o samostatném vypracování této dizertace, obsah, seznam zkratk a abstrakta dizertace v češtině a angličtině, dále 35 stránek literárního přehledu (klasifikace, struktura, lokalizace, signalizace a farmakologie muskarinových receptorů, informace o xanomelinu, agonistu muskarinových receptorů, a o lidských onemocněních centrálního nervového systému zahrnujících muskarinové receptory), cíle dizertace, materiál a metody (7 stránek), výsledky (16 stránek), diskusi (5 stránek), závěr, seznam vlastních publikací, seznam citované literatury (18 stránek). Dizertace je doplněna dvěma separátními autoreferáty formátu A5 s předepsanou strukturou, zvláště v češtině (27 stran) a v angličtině (26 stran). Struktura dizertační práce i autoreferátů je v souladu s řádem doktorského studijního programu v biomedicíně.

Téma této dizertační práce je aktuální, protože je zaměřeno na poznávání řízení funkcí muskarinových cholinergních receptorů (mAChR) na molekulární úrovni, jejich ovlivnění ligandy, což je jedna z cest jak zvýšit možnost nalezení látek, potenciálních léčiv, se selektivnějšími, výhodnějšími farmakologickými účinky. Muskarinové receptory hrají významnou úlohu v mnoha důležitých funkcích v centrálním nervovém systému i na periférii.

Předložená dizertace má jasné cíle. Konkrétně v ní šlo o zjišťování rozdílů v okamžitých a dlouhodobých účincích xanomelinu u jednotlivých podtypů muskarinových receptorů (mAChR) a analýzu neodmývatelné vazby xanomelaninu na jednotlivých podtypech mAChR.

Byly použity osvědčené metody – stanovení koncentrace nitroboněčného vápníku rychlou mikrofluorimetrií na CHO buňkách z tkáňových kultur, stanovení hustoty a vazebných vlastností muskarinových receptorů v membránách i

molekulárně biologické metody (transfekce CHO buněk cDNA). Oddělení neurochemie Fyziologického ústavu je na vysoké metodické úrovni, v použitých metodách i výzkumu molekulárních mechanismů muskarinových receptorů má dlouhou tradici. Svědčí pro to i skutečnost, že jedna z publikací pracovníků této laboratoře se umístila mezi 10 nejcitovanějšími publikacemi v oblasti výzkumu molekulárních mechanismů muskarinových receptorů (Jakubík a spol. *Molecular Pharmacology* 1997). Podle mého názoru tak měla doktorantka mgr. E. Dolejší možnost získat na tomto pracovišti výborné metodické a vědecké zkušenosti.

Cíle dizertace byly splněny za rigorózních vědeckých podmínek. Dizertantka zjistila že xanomelin sice vyvolává mobilizaci nitrobuněčného vápníku ve všech podtypech muskarinových receptorů, vyvolává však účinnější a delší trvání vápníkové odpovědi na  $M_1$  a  $M_4$  receptorech. Výsledky výzkumu reverzibilní a neodmyvatelné vazby xanomelinu naznačují, že u  $M_1$  a  $M_4$  receptorů existuje odlišný aktivační mechanismus. Xanomelin se projevuje jako ortosterický agonista a alosterický modulátor.

Dizertace je napsaná pečlivě, přehledně, s kvalitními barevnými grafy. Podle mého názoru její autorka výborně zvládla metodiku vědecké práce.

K předložené disertaci nemám zásadní kritické připomínky.

Dotaz bych měl pouze jeden: alcuronium uvedený v Tab. 1.1 na str. 16 dizertace jako ligand mAChR je i ligandem nikotinových receptorů na nervosvalové ploténce; patří mezi nedepolarizující periferní myorelaxancia. Může mít nežádoucí tzv. vagolytický efekt. Jak byste tento efekt vysvětlila z hlediska působení alcuronia na mAChR?

Dizertace obsahuje originální výsledky, které autorka dizertace publikovala ve vědeckých časopisech s IF a které prošly rigorózním recenzním řízením.

Závěrem mohu konstatovat, že předložená dizertace splňuje požadavky řádu doktorského studijního programu v biomedicíně, tj. je uceleným vědeckým pojednáním se zajímavými a metodicky kvalitně získanými vlastními původními výsledky. Dizertační práce prokazuje předpoklady mgr. Evy Dolejší k udělení titulu „Ph.D.“ za jménem.

V Praze, 4. března 2015

Prof. MUDr. Miloslav Kršiak, Dr.Sc., FCMA  
Ústav farmakologie 3. LF UK v Praze