

POSUDEK NA DIPLOMOVOU PRÁCI

Předložená diplomová práce Bc. Pavla Zimčika nazvaná „**Expresse cholinergního genového místa u myšního modelu Alzheimerovy choroby**“ se zaměřila na parietální kůru sedmiměsíčních APP^{swe}/PS1^{dE9} transgenních myší v jejichž mozcích dochází k vysoké produkci amyloidních fragmentů. Tato choroba se projevuje přítomností extracelulárních plaků tvořených beta amyloidem a intracelulární přítomností hyperfosoforylovaného proteinu tau. Nemoc začíná zvýšením koncentrace beta amyloidu, který se vyštěpuje z transmembránového proteinu prekursoru amyloidu. Cholinergní synapse v této studii použitých transgenních myší vykazují funkční presynaptické, tj. stimulované uvolňování acetylcholinu i postsynaptické poruchy tj. aktivace G-proteinů muskarinickými receptory a úbytek cholinergních markerů. Mezi proteiny presynaptického segmentu patří především enzym cholinacetyltransferáza, který je zodpovědný za syntézu acetylcholinu, a dále váčkový přenašeč pro acetylcholin, který transportuje acetylcholin z intracelulárního prostoru do synaptických váčků.

Mezi hlavní cíle práce bylo zavedení a optimalizování vybraných metod molekulární biologie jako je izolace RNA z tkáně, reverzní transkripce, PCR, kvantitativní PCR atd. Pomocí těchto metod potom stanovit hladiny mRNA pro bílkoviny genového místa jako jsou cholinacetyltransferáza nebo pro váčkový přenašeč pro acetylcholin a všech pět podtypů muskarinových receptorů v mozkové kůře myší daného transgenního kmene a jejich srovnání s kontrolními vzorky myší.

K dosažení vytčených cílů musel Pavel Zimčík zvládnout metody molekulární biologie. Provedl optimalizaci všech těchto metod a pak stanovil pro všechny sledované geny hladiny mRNA v parietální kůře transgenních myší a netransgenních kontrol ze stejného vrhu. Získané výsledky ukázaly, že vyšší koncentrace fragmentů betaamyloidu u transgenních myší nemá vliv na hladiny mRNA pro žádný ze sledovaných genů tj. cholinacetyltransferázu, váčkový přenašeč pro acetylcholin ani pro žádný subtyp z pěti muskarinových receptorů. Autor došel k závěru, že úbytek cholinergních proteinů je důsledkem dějů na úrovni posttranskripce.

Diplomová práce Pavla Zimčika je formálně i jazykově na dobré úrovni s dobrou proporeí mezi teoretickou a výsledkovou částí, kdy výsledky a jejich diskuse zabírají přibližně třetinu z celkového počtu 59 stran. Citované prameny jsou dostatečné a relevantní. Práce je psána velmi pečlivě s minimem překlepů. Z formálního a grafického hlediska nelze předložené práci rovněž nic závažného vytknout.

K práci mám následující komentáře a upřesňující dotazy:

- 1) Je přímá interakce mezi beta amyloidem a některým z muskarinových receptorů?
- 2) Jsou u Alzheimerovy choroby postižené i některé signalizační dráhy zahrnující tyrozinkinázy a muskarinové receptory?
- 3) Participují v toxických účincích beta amyloidu též kalciové signalizační dráhy?
- 4) Zúčastní se v procesu Alzheimerovy choroby také jiné s G-proteiny spřažené receptory?
- 5) Hrají nějakou úlohu v průběhu Alzheimerovy choroby též některé z glutamátových receptorů?

Závěrem mohu konstatovat, že předložená práce Pavla Zimčika je velmi kvalitní a zcela splňuje požadavky kladené na diplomovou práci. Student prokázal schopnost vědecky pracovat a prezentovat dosažené výsledky. Navrhuji tuto práci uznat jako práci diplomovou a hodnotit známkou vzhorně

V Praze dne 18.5. 2010

Ing. Jan Teisinger, CSc. {
FGU AV ČR, v.v.i.