

Posudek na dizertační práci RNDr. Věry Valešové

Úloha glutamatergního systému v patofyziologii schizofrenie

RNDr. Věra Valešová jejímž školitelem je doc. MUDr. František Šťastný, CSc. předložila dizertační práci na 110 stranách, kterou doplnila seznamem vlastních publikací a literaturou, což představuje dalších 21 stran. Práce je doplněna publikacemi, které se týkají přímo tématu dizertační práce kterých je celkem 11. Tyto publikace vhodně doplňují dizertační práci.

RNDr. Věra Valešová se zabývá velmi aktuálním tématem, protože patofyziologie schizofrenie není stále úplně dořešena. Zabývá se jednou z teorií schizofrenie a to teorií glutamatergní. Nelze úplně vytvořit systém zvířecího modelu schizofrenie (jako ostatně dalších psychóz), nicméně autorce se to relativně dobře podařilo. Metodiky které použila jsou velmi dobré. Výsledky práce jsou zpracovány seriózně. Formálně je zpracována dizertační práce dobře. Lze tedy konstatovat, že práce je velmi významná pro biologickou podstatu psychiatrických onemocnění a výsledky mohou být v určitém horizontu použity i v praxi.

V první části dizertační práce autorka shrnuje literární poznatky o schizofrenii.

Velmi dobře jsou zpracovány biochemické a neurochemické změny u schizofrenie, především dopaminergní systém a schizofrenie, patofyziologie glutamatergního systému u schizofrenie. Může být používáno promiskuitně slovo glutamatergní nebo glutamový. Je velmi dobře, že autorka se zabývala i změnami exprese messenger RNA a proteinů u jednotlivých podjednotek glutamátových receptorů u schizofrenie. To je velmi cenná část její studie. Je důležité, že se zabývá i studiem antipsychotik na glutamatergní systém.

Velmi oceňuji kapitulu významu animálních modelů v psychiatrii. To je velmi obtížná kapitola, protože jak správně autorka poznamenává všechny validity nelze prokázat v jednom animálním modelu a proto je třeba využít definice tohoto modelu. Je správné, že autorka zdůraznila heuristický přístup a jeho význam pro formulování nových hypotéz.

Animální modely schizofrenie. Autorka rozebírá farmakologické modely se kterými má sama vlastní zkušenosti. V tabulce 6 je uvedeny behaviorální aktivity a klinické příznaky a co tyto aktivity a změny chování znamenají pro srovnávací modely. Ukazuje dopaminový model, serotoninový model a glutamátový model a zabývá se i genetickými modely. Neurovývojové modely jsou velmi důležité. Jsou to modely malnutriční, model s použitím virové infekce v prenatálním období, který je velmi důležitý, protože se uvažuje, že virová infekce v prenatálním období je jedním z předpokladů vzniku schizofrenie po expozici chřipkovému viru v prenatálním období v těhotenství. Dále je to prenatální expozice dalším virům kromě

chřipkových a perinatální poškození. Autorka správně poznamenává, že i stres se může zapojit do patogeneze tohoto onemocnění.

Autorka rozebírá síly a slabiny neurovývojové a neurodegenerativní hypotézy schizofrenie. Ukazuje excitotoxické poškození mozku u neurovývojové studie a význam celého glutamatergního systému včetně receptorů NMDA a AMPA.

Velmi zvláštní pozornost věnuje N-acetyl L-aspartyl L-glutamátu (NAAG), který je předmětem jejího studia a ukazuje na důležitost NAAG v etiologii schizofrenie.

Autorka si stanovila jako cíl práce zavedení neurovývojového modelu schizofrenie, který vzniká intracerebroventrikulární infuzí N-acetyl L-aspartyl L-glutamátu. Toto je velmi důležité pro model potvrzující neurovývojovou teorii. Tento předpoklad se snaží dokázat morfologicky, neurochemicky a funkčně.

Autorka srovnávala i validitu dvou modelů tzn. NAAG a kyseliny chinolinové, což je experimentální model glutamatergní hypotézy schizofrenie.

V kapitole materiál a metodika rozebírá autorka všechny postupy, které jsou velmi plausibilní a používá významných histologických technik, dále technik histochemických značených buněk. Použila vazebnou studii (3H) glutamátu do frakce synaptozomálních membrán entorhinální kůry, hipokampální formace striata, dále vysoko afinitního transportu cholinu na hipokampálních synaptosomech. To jsou všechno velmi moderní a progresivní metody.

Autorka je doplnila studiem hravým chování a sociální interakcí, open field testem, úlekovou reakcí na silný zvukový podnět, prepulzní inhibicí úlekové reakce a stanovením referenční paměti v Morrisově vodním bludišti (pozn. zvířata v něm byla a ne klimatizována).

Statistika byla korektní, byla použita analýza rozptylu (ANOVA) s použitím post hoc Newman-Keulsova testu. Byly použity i další statistické metody.

Svémi výsledky autorka ukázala na důležitost regionálního poškození po infuzi NAAG, což dokumentovala na histologických a histochemických preparátech. Prokázala buněčné poškození a rozsah a zhodnotila všechny tyto změny kvantitativně. Velice oceňuji kolokalizaci DNA barvení podle Hoechst a TUNELového barvení především v dorsálním hipokampu. Poukázala na změny NAAG na vazbu v entorhinální kůře, v hipokampu a ve triátu u dospělých potkanů. Věnovala se i dalším specifickým vazbám. Tato část práce je velmi silnou stránkou předložené dizertace.

Velmi dobře je zpracována i behaviorální statistika tzn. vlivy na sociální chování, na open field, na prostorové učení dospělých potkanů. Dr. Valešová studovala dopaminový transportér GBR 12909 na chování dospělého potkana v testu otevřeného pole a prepulzní inhibici.

Zajímavá je studie disocilpinu a látky MK801 na chování dospělého potkana po neonatální infuzi. To jsou vše prioritní nálezy popisující změny chování. Důležité je srovnání dvou neurovývojových modelů schizofrenie NAAG a kyseliny chinolinové, kde se ukazují určité rozdíly. To poukazuje na to, že obě tyto látky mají různý vliv na učení.

Autorka velmi kvalifikovaně diskutuje své nálezy a udává možné výsledky a jejich interpretaci. Diskuse je velice kvalifikovaná a je rozdělena podle jednotlivých nálezů. Na základě těchto svých nálezů a diskuse shrnuje své výsledky a ukazuje priority. Výše hladin NAAG ve 12. postnatálním dni v mozkových komorách poškozuje neurony v cingulární kůře, v gyrus dentatus, v mediální části substantia nigra a dorsální části rostralaterálního talamu. Tyto změny byly především během vývoje u dospělého potkana již žádné změny nebyly. Neurogenerace v gyrus dentatus a v mozkové kůře souvisela s poškozením glutamatergního a gabaergního systému v časně dospělosti u potkana. To bylo provázeno změnami chování potkanů v časně dospělosti, ale nebyly tam žádné změny jak v raném chování, tak v aktivitách open field. Podobně tomu tak nebylo ani v Morrisově vodním bludišti. Když se zvýšila mozková hladina dopaminu tím, že se podal inhibitor dopaminového transporteru, tak se zkrátilo trvání imobility a čištění i těchto NAAG potkanů, ale jejich lokomoční aktivita zůstala nezměněna. Podávání disocilpinu, což je antagonist NMDA receptorů zvyšuje lokomoční aktivitu a zkrátila imobilitu a čichání. Potkani, kteří měli neonatální lézi, byli méně citliví vůči působení NK1. Jestliže se srovnávali účinky chinolinové kyseliny a NAAG, poškození mozku bylo daleko větší po podání kyseliny chinolinové než NAAG a to mělo následky nejen morfologické, ale i behaviorální. Intracerebroventrikulární podávání chinolinové kyseliny a NAAG změnilo chování potkana v jeho časně dospělosti a zvyšuje reakci po podání inhibitoru dopaminového transportéru v testu otevřeného pole. To je originální nález. Autorka ukázala, že NAAG má velmi specifické účinky v časném postnatálním období pravděpodobně interakcí NAAG s NMDA receptory které exprimují RN2 dopaminovou podjednotku.

V práci jsou četné překlepy a pravopisné chyby.

V úvodu: schizofrenie je psychotické onemocnění - vhodnější by bylo použít psychické onemocnění; je to psychóza, ale ne psychotické onemocnění.

Na straně 9 není dezorganizace ale dezorganizace. Multifaktorální etiologie je správná a proto je také těžší její rozdělení.

Obecné připomínky k českému jazyku: nemělo by se používat slovo pomocí, dojde k, dochází k, apod. Čeština by měla používat slovesné výrazy. Stejně tak se dá používat slovo vir, ale je lepší používat slovo virus.

Na obr. 1 je překlep schizofrenie je s f.

Je lepší používat slovo strýcové než strýci v tabulce 2.

Čeština je relativní slabinou této studie i když ne nijak dramatickou. Jestliže používáme slovo kůra, mělo by být na začátku sděleno, že jde o kůru mozkovou. V těle máme více kůr např. kůru nadledvin; je gyrus cinguli a ne gyrus cingulí, gliosa není tzv. ale existuje (slovo tzv. je zlozvyk). Díky horší češtině nejsou formulace vždy srozumitelné.

V literatuře uvádí autorka nejprve zahraniční práce s impakt faktorem. Správnější je uvádět práce s impakt faktorem, protože mezi těmito impaktovanými časopisy jsou dvě publikace v časopise Physiological Research, což je český impaktovaný časopis. Druhá část literatury je uváděna českými pracemi. Měla by být uváděna jako neimpaktované práce, protože jak české, tak zahraniční práce mohou být impaktované a neimpaktované.

Dizertační práce je doplněna úctyhodným počtem použitých 226 citacemi v příloze již uvedenými 11 publikacemi buď již publikovaných, nebo připravených k publikaci.


Prezentovaný model je velmi dobře definován. Byly provedeny studie morfologické (klasickou morfologií), histochemické a studie chování. Stálo by zato, aby do budoucna byly tyto nálezy doplněny nálezy elektrofyziologickými, které by mohly funkčně doprovázet vývojové změny, které v těchto oblastech jsou.

Mám dotaz na autorku, zda v literatuře neexistují nějaké práce?

Další dotaz se týká pořadí behaviorálních testů, zda existuje rozdíl ve výsledcích v závislosti na jejich sekvenci?

Závěrem konstatuji, že autorka prokázala svoji vysokou vědeckou kvalifikaci, schopnost samostatnosti vědecké práce, postavení problému a jeho adekvátního řešení jak metodicky, tak i zpracováním výsledků a konfrontací s odborným publikem. Mimořádně oceňuji šíři použitých metodik, které autorka musela zvládnout.

Doporučuji, aby na základě předložené práce byla RNDr. Věře Valešové – Bubeníkové podle paragrafu podle § 47 o Vysokých školách č. 111/1998 Sb. udělena vědecká hodnost Ph.D. v oboru Fyziologie a patofyziologie člověka v rámci postgraduálního studia Biomedicíny na Univerzitě Karlově.


prof. MUDr. Richard Rokyta, DrSc.