

Posudek Disertační práce Mgr. Moniky Vrajové „Vymezení úlohy podjednotky NMDA receptoru v patofyziologii schizofrenie“

Oponent: Doc. MUDr. Jaroslav Blahoš, Ph.D.

Disertační práce se opírá o výsledky publikované ve dvou odborných časopisech s impaktním faktorem, která je navíc spoluautorkou na dalším impaktovaném článku a na jedné souhrné publikaci. Tím jsou splněny podmínky pro udělení titulu Ph.D. paní magistře Monice Vrajové.

Práce je napsaná přehledně a srozumitelně.

Z experimentálního pohledu jsou některé souvislosti molekulárně biologické podstaty složitější, než byly pravděpodobně výchozí předpoklady. Například, u receptorů typu NMDA, a v podstatě všech glutamátových receptorů, existuje v buňkách, které je syntetizují, velká nitrobuněčná zásoba, tedy mimo místa jejich působení. Tato vlastnost proteinů neuropřenašečových receptorů pravděpodobně vysvětluje fakt, že mírný pokles celkového množství proteinu NR1, či jiné podjednotky, nevede k měřitelným funkčním alteracím. Tedy, částečným a dočasným potlačením syntézy nových molekul podjednotek NMDA receptoru je pravděpodobně behaviorálně nepostihnutelná, neboť zásoba proteinu umožní kompenzaci z nitrobuněčných zásob, a na buněčné membráně v synapsích je pak relativně dostatek proteinu. Tak se dá snad vysvětlit diskrepance mezi výrazným behaviorálním efektem farmakologické manipulace NMDA receptoru a jeho absencí u interference se syntézou podjednotek tohoto receptoru. Proto se v poslední době podobné studie zaměřují spíše na lokalizaci a funkčnost receptorů, či jejich asociovaných proteinů, přímo v synapsích a jejich bezprostředním okolí.

Z technického hlediska bych se přimlouval za prezentaci výsledků tak, jak jsou získány, konkrétně, pokud je jednou z důležitých kontrol detekce proteinů imunobloty, pak je důležité ukázat přímo snímky pořízené pomocí chemiluminescence, tedy alespoň reprezentativní vzorek dokumentující vhodnost každé použité protilátky. To, že je protilátka komerčně dostupná je zcela irelevantní. Jinými slovy, kvantifikace imunoblotů je poměrně složitý proces, při kterém je nutné dbát na takové jemné nuance, jako je rozdílná afinita každé protilátky k rozpoznávaným molekulám, a podobně. Z uvedeného vyplývá, že pokud porovnáváme intenzity vzniklé rozpoznáním detekovaných molekul,

musíme vzorky upravit tak, aby obsahovaly přímo poměřitelné množství vzhledem jak k celkovému množství proteinu, tak kontrolní molekule (v tomto případě je takovouto „housekeeping“ molekulou beta-tubulin). Vzorky by v tomto případě, dle mého názoru měly obsahovat celkový protein v co nejhodnějším množství, ne jen částečně separovanou subcelulární frakci.

U pokusů s RGS4, které zapadají do poměrně širokého okruhu studia schizofrenie, by asi bylo zajímavé porovnání poznatků získaných v experimentech provedených na buněčné linii s výsledky experimentů založených na primárních buněčných liniích, nebo ještě lépe in vivo.

Závěrem tedy znovu konstatuji, že předložená disertační práce splňuje podmínky pro udělení titulu Ph.D., a tedy doporučuji jeho udělení paní Mgr. Monice Vrajobé

V Praze 15.8.2012



Doc. MUDr. Jaroslav Blahoš, Ph.D.