

# Institute of Physiology AS CR

---

Ladislav Vyklický Jr., M.D., DSc.  
Department of Cellular Neurophysiology  
Institute of Physiology AS CR v.v.i.  
Václavská 1083, 142 20 Prague 4

Telephone: (420) 24106 2450  
FAX: (420) 24106 2488  
E-mail: [vyklicky@biomed.cas.cz](mailto:vyklicky@biomed.cas.cz)  
<http://www2.biomed.cas.cz/d331/index.html>

## Oponentský posudek disertační práce

**Název práce:** Vymezení úlohy NR1 podjednotky NMDA receptoru v patofyziologii schizofrenie

**Autorka:** Mgr. Monika Vrajová

Disertační práce byla zaměřena na studium tří okruhů otázek: (i.) genetickou manipulaci exprese NMDA podjednotek a její důsledky pro chování experimentálních zvířat v behaviorálních testech, (ii.) studie *post mortem* exprese NR1 podjednotky a (iii.) vliv snížené exprese regulátoru G-proteinové signalizace na expresi vybraných genů. Použitím především molekulárně biologických metod se autorce podařilo ukázat řadu změn, ke kterým dochází u animálních modelů závažných duševních onemocnění a v mozku pacientů trpících schizofrenií. Disertační práce je členěna do 8 hlavních částí, s celkovým rozsahem 84 stran. Metody, Výsledky a Diskuze jsou připraveny odděleně pro každou ze tří kapitol s krátkým společným závěrem.

Mezi hlavní výsledky disertace patří prokázání, že aplikace antisense nukleotidů namířených proti podjednotkám NMDA receptorů překvapivě snižuje expresi postsynaptických proteinů (PSD-95), charakterizace, jak je exprimována NR1 podjednotka v lidském mozku pacientů trpících schizofrenií, a důkaz vlivu snížené hladiny regulátoru G-proteinové signalizace na expresi vybraných genů. Dosažené výsledky předložené v disertační práci přinesly původní nálezy, které jsou dobře prezentovány a byly publikovány v mezinárodních časopisech – *Neuroendocrinological Letters* a *Neurochemical Research*. Výsledky hodnotím pozitivně, i když je jasné, že ne vždy se autorce podařilo potvrdit racionálně navržené hypotézy.

K disertační práci mám drobné formální připomínky:

- ... blokace je farmakologický termín interakce látky s iontovým kanálem – vhodnější termín by byl - navozena snížená exprese NMDA receptoru;
- ... terminologie je nejednotná, někdy česká, někdy anglická, např. kyselina/acid (str. 8);
- ... chápu, že některé termíny je obtížné překládat do češtiny, ale například fetal calf serum je možné přeložit poměrně snadno jako fetální telecí sérum;
- V textu je opakovaně užit termín transkript ... má být asi transkript, podobně sestřižené varianty - má být sestřihové varianty;
- ... nepřesnosti, jako např. na straně 45 - interakce C koncových domén s diagnózou;
- ... bývá obvyklé uvádět stejný počet desetinných míst v průměru i směrodatné odchylce (str. 40);
- ... použití zkratk je někdy zavádějící, tak např. na obr. 4 NR12B, asi by bylo vhodnější NR1/NR2B;
- Časová blízkost ... vhodnější např. časová souslednost (str. 33);

- ... z metodického hlediska si nejsem jist, zda oligonukleotidy byly do hipokampu aplikovány stereotakticky nebo odhadem;
- ... úmrtnost neuronů - asi vhodnější neuronová smrt;
- ... bývá zvykem u tabulek začít názvem, následuje vlastní tabulka a na závěr je legenda – podobně legenda obrázku bývá umístěna pod vlastním obrázkem, v disertaci je to stylově nejednotné;
- ... za ne zcela šťastnou považuji kombinaci českého a anglického textu ... v horním temporálním laloku a anterior cingulate cortexu (str. 24);
- ... text označující sloupce v tabulce 3 je posunut;
- ... mezi farmakologické parametry nepatří proudová amplituda (str. 22);
- ... nebývá obvyklé odkázat čtenáře, aby se podíval na PUBMED a našel si tam odkazy podporující jistý názor;

Dosažené výsledky studia Mgr. Moniky Vrajové obsažené v předložené disertační práci přinesly původní nálezy vysoké odborné úrovně. Některé byly již publikovány v mezinárodních časopisech a po formální stránce splňují kritéria, které si stanovila OR Neurověd pro obhájení titulu Ph.D. Komentář a poznámky zmíněné výše nikterak nesnižují celkově pozitivní dojem, který z práce mám. Doporučuji, aby Mgr. Monice Vrajové byl udělen titul Ph.D.

Praha, 18. září 2012



MUDr. Ladislav Vyklický DrSc.

V souvislosti s tématem práce mám dva okruhy otázek:

- (1.) Obrázek 4 naznačuje pro mě trochu překvapivá data, a sice, že exprese proteinu PSD-95 je snížena v případě samostatného podání antisense oligonukleotidů NR2A nebo NR2B, ale ne v případě jejich současného podání. Jaký molekulární mechanismus by mohl vést k selektivní změně exprese PSD-95 pouze v případě podání samotných antisense oligonukleotidů (s ohledem na to, že exprese PSD-95 je minimálně o řád větší než exprese NMDA receptorů)? Jaký mechanismus může být odpovědný za spřažení PSD-95 a NMDA, které je typické pro synapse, ale výskyt NMDA receptorů v mimosynaptické oblasti je výlučně bez PSD-95? Nenaznačují Vaše data i jinou interpretaci vzniku duševních onemocnění ve vztahu k NMDA receptorům, a sice jejich „sníženou distribucí“ do synaptických oblastí a zvýšenou do mimosynaptických oblastí (což by též podporovala zvýšená neurodegenerace, která schizofrenii doprovází)?
- (2.) Práce s buněčnými liniemi je obecně problematická pro jejich genetickou nestabilitu a malou relevanci k regulaci genů ve zralé nervové tkáni. Přesto však považuji výsledky s aplikací antisense RGS4 oligonukleotidů na buněčné linie za zajímavé pro další experimentální práci. Byly změny v genové expresi vyvolané aplikací antisense RGS4 oligonukleotidů vratné nebo došlo k selekci subpopulace buněčné linie s jinou genovou expresí? Ve vztahu k předcházející práci by mě zajímalo, zda snížená exprese podjednotek NMDA receptorů (navozená aplikací antisense oligonukleotidů) vede v dané buněčné linii k alteraci exprese jiných genů, například těch kódujících PSD-95?