

Oponentský posudek na disertační práci

„Histomorfologický, biochemický a behaviorální pro animálních modelů schizofrenie“

předloženou MUDr. Annou Kubešovou k obhajobě v rámci doktorského studijního programu Neurovědy.

Disertační práce je tematicky propojeným a komentovaným shrnutím tří publikovaných prací předkladatelky, z nichž u jedné impaktované práce (uveřejněné režimu „ open access“ v PLoS One) je předkladatelka prvním autorem a u dvou spoluautorem. Dvě z předložených původních prací, připojených k vlastnímu textu disertace, byly publikovány v angličtině ve významných zahraničních periodících s kumulovaným impakt faktorem (IF) 7, 522. Třetí původní práce byla publikována v českém recenzovaném odborném periodiku. Z celkového objemu disertační práce 109 stránek je osmdesát čtyři stran věnováno vlastnímu textu. Ten je členěn na úvod, speciální část a společnou diskusi se závěrem. V příloze jsou tři separátní tisky publikovaných článků. Práci doplňuje 22 obrázků a grafů a 5 tabulek. Připojeno je také 356 literárních odkazů, vesměs z novější literatury.

Práce, které sloužily jako podklad disertace, předkládají popis animálních modelů schizofrenie a souhrn argumentů svědčící pro jejich konstrukční - patogenetickou validitu. První práce představuje neurovývojový model procesuálního psychiatrického onemocnění provokovaný postnatální imunitní aktivací lipopolysacharidovým bakteriálním endotoxinem u potkanních mláďat. Další dvě práce předkládají neurotoxické modely se schizofrenií spojených behaviorálních, neurofyziologických a biochemických změn. V češtině je publikace zabývající se účinkem mezikalínu a psilocinu na prepulzní inhibici a kvantitativní EEG. Anglicky v renomovaném periodiku Psychopharmacology (Berlin) byla publikována studie o profilu elektrofyziologických, biochemických a behaviorálních účinků entaktogenu ze skupiny fenyletylaminů- látky 2C-B na potkanní mozek a chování.

Úvod práce je rozdělen na dva oddíly. První oddíl je věnován schizofrennímu onemocnění s důrazem na morfologické a biochemické změny u tohoto onemocnění zjištěné. Druhá část úvodu se zabývá animálními modely schizofrenního onemocnění rozdělenými podle úrovně na které modelování změn projevů spojených s onemocněním schizofrenií probíhá. Některé oblasti (genetické modely např.) jsou probrány poměrně stručně, ale i tak je úvod informativní a jako příprava na porozumění dále prezentovaným datům dostatečný. První studie Speciální části disertace velmi důkladně zpracovává zajímavý vývojový model změn spojených s perinatální imunitní zátěží v animálním modelu s potkanními mláďaty. Konstruktivní validita pro schizofrenii byla ověřována měřením plasmatických a mozkových hladin monoaminů, neuromediátorů mozkové excitace a inhibice, tedy glutamátu a GABA a alternativního průběhu serotoninového metabolismu. Zkoumá také morfologické změny v hipokampu (vztah k organizaci kontextuálních a referenčních dat v mozku), v dopaminergních neuronech substantia nigra (atribuce významu) a aktivaci mikroglie a astrocytů (ovlivnění komunikace neuronálních sítí v mozku). Výsledky podpořily představu o

konstruktivní validitě komplexního vývojového modelu procesuálního onemocnění mozku (jakým je také schizofrenie), která zahrnuje mj. také aktivaci zánětlivých procesů. Druhá studie přinesla zajímavá elektrofyziologická a psychofyziologická data v animálním modelu intoxikace potkanů tradičními přírodními halucinogeny: meskalinem a psilocinem. Překonala úskalí, které animální model halucinogenních účinků přináší a nabídla analýzu elektroencefalografických výkonových spekter, EEG koherence a prepulzní inhibice na akustické podněty po různých dávkách psychedelik. Identifikovala na různých úrovních animálního modelu změny, které jsou v souladu s poruchou zpracování informací u schizofrenie. Třetí studie obsahuje data z animální farmakologické studie podání entaktogenu 2C-B(4-bromo-2,5 dimethoxy- fenyletylaminu). Látka byla porovnávána s účinky vehikula a stimulancia amfetaminu. Srovnáván byl vliv těchto látek na aktivitu hlodavců, na mikrodializační sondou detekovaný obsah dopaminu v nc. accumbens a opět na EEG spektra a prepulzní inhibici při akustické úlekové reakci. Výsledkem jsou nálezy zvýšeného množství dopaminu a známek poklesu jeho metabolismu v nc. accumbens. Látka 2C-B také modelovala hyperlokomoci odpovídající nálezům u psychotogenních látek. Byl po ní zaznamenán pokles výkonu EEG v oblastech vyšších frekvencí (gamma a beta), což odpovídá elektrofyziologickým nálezům u psychóz, obdobně jako deficit prepulzní inhibice v testu akustické úlekové reakce. Disertaci uzavírá shrnující a dost stručná diskuse předložených prací.

Předložená disertační práce jako celek se vyznačuje vysokou úrovní. Je patrné kvalitní zvládnutí výzkumného „řemesla“ při plánování, provedení i hodnocení experimentů. Jednotlivé publikace zejména studie první a třetí, představují výsledek sérií experimentů v několika neurovědních oblastech, od histomorfologie, přes biochemii po elektrofyziologii. Každá z předložených prací se ctí obstojí při prověřování promyšlenosti a přípravy experimentů a metodického přístupu. Přinášejí bohatství dat, která jsou interpretována velmi zasvěceně, střizlivě a se snahou najít jejich podstatné souvislosti. Pro pečlivost a rozsah záběru je považují za mimořádné. Samotný text dizertace je napsaný věcně, úsporně, a srozumitelně, ke kvalitě dobré komunikace přispívá i formální charakteristika předložené disertace- je v ní minimum překlepů, stylistických nešikovností nebo nejasností. Dobře se čte.

Ne zcela konkrétně jsou zformulované cíle práce: “ ..objasnit... porovnat.... analyzovat“ formativní vlivy u jednotlivých modelů předkládaných v práci. Tato obecnost je kompenzována jasně zformulovanými hypotézami u jednotlivých studií. Diskuse by si zasloužila podrobnější konfrontaci s dosavadními poznatky (těch ovšem není mnoho, práce jsou myslím značně originální) a probrání limitací především „translačního“ významu dat. Otevřenou otázkou pro diskusi zůstává propojenost modelů vzhledem k možnosti identifikace společného výsledného patogenetického řetězce psychózy, resp. spojení jednotlivých modelovaných odchylek se specifickými behaviorálními změnami. Také podpora analogie mezi biochemickými a elektrofyziologickými změnami v animálních modelech a nálezy u lidí s psychotickým resp. schizofrenním onemocněním by závěrečné společné diskusi prospěla. Lépe by vyniklo poslání práce .

Práce je napsána jak již výše zmíněno pečlivě a je výjimečná i dobrou redakční a jazykovou péčí. Vzdor tomu se do ní vloudily ojedinělé nevýznamné překlepy nebo stylistické nešikovnosti. Jen abych dostal kritické roli oponenta, některé zmíním :

Na str.17 ř.3 : .. trvání těchto symptomů.. se vztahuje k výše vyjmenovaným trsům psychopatologických příznaků. V MKN se ale afektivní a kognitivní příznaky mezi kritérii pro dg. nevyskytují.

Na str. 31 , ř.7 . zdola :DTNBP1 je gen pro dystrobrevin- binding protein, ne „ dystrobrevin...“

Str 45 ř.18 : pacientů „se schizofrenií“, ne „schizofrenií“

Str 52 ř. 4: žádný stimul, nikoliv „žádní“..

Rád bych položil několik otázek k doplnění jasné představy o použitých metodách ve studii 2:

1. Jaká je variabilita ASR u potkanů a u lidí ?
2. Jak velký počet potkanů byl nakonec z analýzy ASR vyřazen? (Ze studie 2 byli vyřazeni potkani, u kterých akustická úleková reakce (ASR) vyvolala nízkou odpověď).
3. Byly rozdíly v délce a frekvenci pasivních a aktivních úseků chování hlodavců před aplikací psychedelik a po ní srovnatelné ?
4. Jak dlouhé úseky EEG byly kvantifikovány? Byla detekce artefaktů prováděna detekčním programem, nebo byla kontrolována také vizuálně?
5. S ohledem na rozdíly ve výkonu theta pásma v různých intervalech od podání empatogenu 2C-B: je známo více také o změnách průběhu EEG výkonu v delších intervalech než je doba do 20 minut po podání mezkalinu a psilocinu?
6. Studie 1 vyniká pluralitou a důkladností přístupů při získávání dat vývojového modelu založeného na postnatální stimulaci imunity. V souvislosti s ostatními pracemi souboru se nabízí otázka zda byla někdy zkoumána elektrofyziologická data a prepulzní inhibice (ASR) u takového animálního modelu ?

Následující dvě otázky jsou spíše výzvou ke spekulativní diskusi, ale šíře a hloubka předložených dat dovoluje dle názoru oponenta předkladatelce pokus o obecnější interpretaci.

7. Lze se na základě předložených prací domnívat, resp. interpretovat předložené práce tak, že zatímco vývojové změny podmíněné perinatální imunitní stimulací mají charakter chorobné dispozice (projevující se redukcí objemu hippocampu a dysregulací dopaminové a serotoninergní neurotransmise) , mají toxické změny vyvolané psychedeliky nebo entaktogenem charakter spouštěče elektrofyziologické a

neurochemické funkční deregulace, která se v lidské psychopatologii projevuje v oblasti kognice?

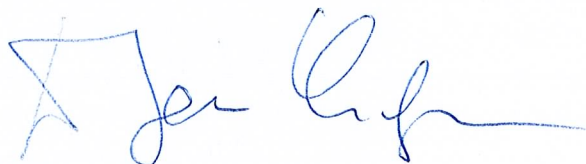
8. Z hlediska práce jako celku by stálo za úvahu, zda identifikované odchylky na všech sledovaných úrovních zkoumání (histomorfologické, neurochemické, elektrofyziologické i behaviorální) lze interpretovat jako model onemocnění (schizofrenie), model syndromu psychózy nebo zda každá z detekovaných odchylek modelu od normy má svůj význam pro konkrétní symptomy, eventuálně symptomatické dimenze (emoční aktivace, pohotovost k detekci hrozby), které se podílejí na vysoce variabilním klinickém obrazu duševního onemocnění u lidí. Protože neurotoxické a vývojové modely jsou z hlediska mechanismu vzniku schizofrenie v kontrastu, lze z předložených studií dovodit nějaký komentář k dilematu vývojového nebo neurodegenerativního pojetí patogenezy schizofrenního onemocnění ?

MUDr. Anna Kubečková pracuje v Národním ústavu duševního zdraví. Studentka byla během studia vedena zkušenými mentory. Jejím školitelem byl prof. MUDr. Jiří Horáček, PhD , spolupracovníkem a neformálním mentorem byl MUDr. Tomáš Páleníček PhD. Její publikační činnost, mimo článků které byly podkladem pro disertační práci, zahrnovala další dvě publikace v odborných periodících s IF, v nichž u jedné byla prvním autorem. Její kumulovaný impakt faktor tak v rozmezí necelých čtyř let dosahuje hodnoty 12, 535. Celkový počet publikací ke kterým je třeba přičíst další tři publikace bez impakt faktoru dosahuje za stejné, zhruba čtyřleté, období celkového počtu osmi publikací. U dvou impaktovaných a u dvou neimpaktovaných původních prací je studentka prvním autorem. V zahraničních periodících s IF byly publikovány celkem 4 původní práce. WoS uvádí citovanost 4,33 na publikovanou práci při celkovém počtu 13 citací, H-index 2. Protože se jedná o studenta publikačně aktivního poměrně krátkou dobu, lze tyto scientometrické údaje považovat za uspokojivý příslib do budoucna. Disertační práce jednoznačně dokládá, že autorka je řemeslně kvalitně vybavená pro výzkumnou práci v oblasti neurov. Rozumí souvislostem i problémům, které přináší „translace“ nálezů animálního základního výzkumu do klinické medicíny, umí získat kvalitní data, je střízlivá v jejich interpretaci a dokáže jasně formulovat výsledky.

Práce splňuje požadavky kladené na disertační práci v doktorském studijním programu Biomedicína. Dle mého soudu studentku plně kvalifikuje k získání vědecké hodnosti PhD. Doporučuji disertační práci k obhajobě před oborovou radou.

V Hradci Králové 12.11.2015

Prof. MUDr. Jan Libiger, CSc.



Psychiatrická klinika LF a FN UK Hradec Králové