

OPONENTSKÝ POSUDEK DISERTA NÍ PRÁCE

nazvané

„Studium modulace rekombinantních a nativních NMDA receptor“

Autor diserta ní práce: Ond ej Cais
Školitel: MUDr. Ladislav Vyklický, DrSc.

P edloženou diserta ní práci v celkovém rozsahu 97 stran provází 239 citací prací obsažených v seznamu literatury, z nichž však jen 229 je možné dohledat v textu. Naopak v textu jsou 3 citace, které nejsou uvedeny v seznamu použité literatury. Disertace má klasické len ní, p í emž textovou ást dokumentuje 20 obrázk (2 obrázky uvedeny pod stejným íslem jako 6.4 – viz str. 64 a 65/66, ale jednomu z nich asi p ísluší chybn í ozna ení 6.3). Data jsou dále shrnuta do 6 p ehledných tabulek. Text je napsán bezchybn , formula n srozumiteln , jen s n kolika zbyte nými anglikanismy (nap . fitovat).

Na 22 stranách Úvodu autor výstižn popisuje základní stavbu a funkci *N*-metyl-D-aspartátového receptoru (NMDA-R) a detailn ji rozvádí v p ípad charakteristiky fyzikáln - chemických vliv , jmenovit v p ípad modula ního ú inků neurosteroid , na tento typ glutamátového receptoru. Je však t eba upozornit, že v Úvodu (ale i jinde) použité ozna ení podjednotek NMDA-R je v sou asnosti oficiáln neplatné a bylo nahrazeno novou nomenklaturou, jak o tom bylo referováno na listopadové konferenci ve Washingtonu (viz také *Neuropharmacology* 2009;56/1:2-5).

Na dalších 10 stranách si autor disertace vyty uje ty i logicky formulované cíle práce, k jejichž spln ní volí vhodné, technicky náro né metodické postupy popsané na 10 stranách. Použité metody byly vypracovány v laborato i školitele a opakovan úsp šn publikovány v prestižních asopisech s IF. Popis jednotlivých metodických postup názorný, ale rád bych se ujistil, že Petriho misky byly opravdu z polystyrenu. Také nebylo uvedeno složení roztoku I, II a III ze str. 29. Z textu dále nevyplývá pro pro stimulaci NMDA-R byly použity r zné koncentrace glutamátu (0,5-1000 μ M) a m nila se i doba trvání aplikace. M lo to d sledky pro porovnávání získaných dat a jejich inte rpretaci (diskuze to nerozvádí)? T žišt práce je však nepochybn v matematickém zpracování nam ených dat a v jejich následném porovnání s nam enými i vypo tenými hodnotami, uvedenými v pracích jiných autor (viz Diskuze). Pro srovnání vlastností rekombinantních receptor GluN1/GluN2B s receptory v membránových ter ících izolovaných z povrch „nativních“ hipokampálních neuron by

bylo vhodné mít změřeny jen na jediném iontovém kanálu, který by byl co do podjednotkové stavby definován vodivostními charakteristikami.

Na dalších 20 stranách jsou popsány dosažené výsledky, z nichž většina byla publikována ve tiskových sděleních s IF (jedné z nich je student prvním autorem). Další publikace je připravována do tisku. Tím je splněna i jedna z podmínek pro obhajobu vlastní disertace. Za vysoce produktivní autorovy nálezy lze označit především kinetické charakteristiky NMDA-R, kterých student dále využívá při studiu modulace těchto receptorů vybranými neurosteroidy (a jejich modifikovanými deriváty). Tato část disertace má nejbližší k praktickému využití a to navzdory skutečnosti, že jejich použité koncentrace (100 nebo 200 μM) jsou řádově vyšší než koncentrace zjištěné v krvi nebo v mozkomíšním moku člověka.

Porovnávání výsledků s literárními údaji, naměřenými nebo matematicky odvozenými, je vedeno v rámci dalších 26 stranách disertace, včetně vlastního Závěru. Protože však autor neměl funkční charakteristiky heteromérů s podjednotkovým složením GluN1/GluN2A, stejně jako u „nativních“ receptorů, nelze jednoznačně tvrdit, že všechny receptory mají GluN1/GluN2B stavbu, zůstává disertace otevřená k doplňujícím otázkám. Jsou to:

1. Do jaké míry se na popsáných změnách podílí s teplotou se měnící fluidita povrchové membrány?
2. Může se na variabilitě výsledků, získaných za použití „nativních“ hipokampálních neuronů, podílet přítomnost dalších GluN2 podjednotek NMDA-R, jmenovitě GluN2A a GluN2D?
3. Do jaké míry se na variabilitě hodnot naměřených na rekombinantních nebo nativních receptorech může podílet přítomnost některé z dalších sedmi sestřihových forem GluN1 exprimovaných v HEK293 buňkách nebo v hipokampálních neuronech?
4. Do jaké míry se mohou na neurosteroidy podmíněné změny charakteristik NMDA-R v povrchích „nativních“ hipokampálních neuronů (nebo z nich vytržených terčů) podílet také další receptory (např. $\text{GABA}_A\text{-R}$ nebo nAChR)?

ZÁVĚR. Není pochyb o tom, že autor svými produktivními nálezy významně přispěl k našemu lepšímu chápání glutamatergní neurotransmise a to především v případě GluN1/GluN2B heteromérů. Svá zjištění shrnul do tří publikací otištěných v časopisech s IF, přičemž jedné z nich je prvním autorem. Další práce je k publikaci připravována. Předložená disertační práce je uceleným souborem molekulárně neurofyziologických nálezů porovnávaných s výpočty na těchto nálezů vycházejících. Práce je součástí podnětů k dalšímu studiu glutamatergní neurotransmise, od které se očekává i možné farmakologické (a terapeutické)

využití. Nejblíže k tomuto využití má ta část studie, která se zabývá modulací NMDA-R neurosteroidy.

Předložená disertační práce je zpracována velmi kvalitně, využívá moderních molekulárně genetických metodických postupů a získaná data široce diskutuje s matematickými schématy. Obsahuje nové v oboru poznatky a odpovídá tak požadavkům kladeným na disertační práci tohoto druhu. Kolega Ondřej Cais, postgraduální student v oboru „Neurofyziologie“, v předložené disertaci prokázal nejen schopnost samostatně v oboru práce, ale i schopnost dosažené výsledky správně interpretovat a zpracovat do publikací s IF. Proto v souladu s platnými předpisy navrhuji Ondřejovi Caisovi udělit v oboru hodnost doktor filosofie (Ph.D.).

Praha, 28. srpna 2009

Vypracoval: Doc. MUDr. František Šesták, CSc.