

Posudek na doktorskou dizertační práci Mgr. Tomáše Petráska

Učení a paměť u transgenních potkanů se sníženou expresí proteinu Nogo-A

školitelem této dizertační práce byl Doc. RNDr. Aleš Stuchlík, PhD.

Autor Mgr. Tomáš Petráska předložil dizertační práci zpracovanou na 128 stranách z toho je 23 stran literatury, která je obrovská a má několik set položek, takže vlastní prezentace je zpracována na 104 stranách. Práce je doplněná 3 významnými autorovými publikacemi s vysokým impakt faktorem které vhodně doplňují celkový text.

V úvodu práce se autor zabývá velice podrobně proteiny Nogo počínaje jejich objevem, jejich biochemií a dalšími vlastnostmi těchto proteinů. To považuji za vynikající část biochemického popisu Nogo proteinu. V další části jsou popsány funkce proteinu Nogo-A. Velmi zajímavý je teoretický rozbor Nogo proteinů a dalších retikulonů v patologických procesech. To je velmi důležitá kapitola, zejména je to rozbor retikulonů v patologii Alzheimerovy choroby v kognitivních poruchách spojených se stárnutím, v amyotrofické laterální skleróze a dalších poruchách CNS. Také se zabývá Nogo proteiny a jejich vazebními partnery při mozkové mrtvici a jejich modelech. Velmi důležitý je i podíl Nogo proteinů v patofyziologii schizofrenie.

Autor je specialistou na chování a proto také popisuje chování a kognitivní funkce v animálních modelech kde je narušena Nogo funkce a dependentní signalizace. Velmi cenná je kapitola o animálních modelech schizofrenie a různé transgenní modely, které jsou zaměřeny na Nogo a další retikulony.

Popis je velmi podrobný. Zaujala mě exprese Nogo při patologických úrazech míchy a při mozkové ischemii. Autor se také dotknul axonálního růstu a plasticity a určité neuroprotektce ve kterých mohou hrát úlohu Nogo proteiny. Velmi zajímavý je také popis fylogeneze proteinů retikulonové rodiny. Ti existují již u prokaryotů a dostávají se až k obratlovcům. To je neobyčejně zajímavá věc. Další je otázka regenerace, kdy jsou proteiny Nogo popisovány u mozkové mrtvice.

Na straně 36 let je velmi důležitá diskuze o inaktivaci NgR1, PirB a SIPR2 a axonální regeneraci. To je velmi důležitá diskuze zejména v souvislosti s pracemi, které se provádějí v Ústavu experimentální medicíny AV ČR u možných terapeutických náhrad jednotlivým kmenovými buňkami.

Tato studie ukazuje, že celý systém, který zprostředkuje inhibici axonálního růstu je vysoce redundantní a vyřazení některé složky se vůbec nemusí fenotypicky projevit. To způsobuje, že některé laboratoře mají různé výsledky a proto interpretace získaných výsledků je velmi obtížná a někdy i nemožná. Proto si velice cením, že se autor velmi kriticky postavil k těmto experimentům. Důležité je, že i Nogo se může jevit jako regulátor synaptické plasticity. Nogo-A se exprimuje v neuronech, které jsou v prenatálním vývoji velmi aktivní, ale po porodu klesá. Ale v těch oblastech mozku kde je zachována určitá míra plasticity (hipokampální pyramidové buňky a interneurony), je jeho aktivita je stále ještě vysoká.

Líbí se mi autorův rozbor korelátu tvorby paměťových stop z hlediska elektrofyziologie a srovnání s procesy dlouhodobé potenciace. Nadměrná exprese NgR1 může způsobit poškození dlouhodobé paměti i na behaviorální úrovni. Autor se zabývá ještě dalšími možnými projekcemi této zajímavé Nogo proteiny v neuroplasticitě. Tímto principem by se mohla léčit eventuálně tupozrakost.

Neuroprotektivní působení Nogo-A při ischemickém nebo oxidativním stresu může Nogo-A hrát protektivní úlohu. Nogo proteiny a další retikulony se uplatňují v patologických procesech například u Alzheimerovy choroby, velmi výrazně u amyotrofické laterální sklerózy. Kdyby metoda jejich stanovení nebyla tak náročná, tak u těchto chorob by to mohlo sloužit i diagnosticky. U amyotrofické laterální sklerózy je role Nogo proteinů neuroprotektivní a nebylo to prokázáno zatím pouze na myších. Mohlo by to být určitým způsobem významné klinicky. Superoxidismutáza je enzym, který chrání buňku před oxidativním poškozením a stresem. Část případů, které byly popsány při amyotrofické laterální skleróze ukázala, že byla spojena s mutacemi genu kolerujícího právě supeoxidismutázu.

Největší pozornost byla v této práci věnována schizofrenii, jako neurovývojové poruše. Velmi významné jsou i modely které autoři popsali velmi podrobně a potom přistoupili k jejich využívání. Jedná se o různé transgenní další a modely. Byly to zejména potkani linie L2, kteří byli studováni.

Tak jako je kvalitní úvodní kapitola také je kvalitní další experimentální část práce. Byly stanoveny cíle a hypotézy, i když se v některých momentech překrývají, tak přece jen tam jako hypotézy formulovány jsou. To považuji za základ této práce. V experimentální části jsou velmi dobře popsané metody. Autor skutečně zvládnul spoustu metod, které velice dobře demonstruje,

(např. obrázek transgenního modelu). Dále nové metody jako metoda kolotočového bludiště, které laboratoř doc Stuchlíka používá, dalšími jsou segregáční baterie v bludišti, vyhýbání se místu. Vše autor srovnává s klasickou metodou Morrisova vodního bludiště. Podrobně popisuje všechny tyto metody což je což je velmi cenné.

Výsledky autor dobře dokumentuje ve třech přiložených pracích. Mám poznámku k autorově vyjadřování se o statistice. Autor velmi kriticky hodnotí některé pokusy, které nebyly statisticky zhodnocené pro malý počet zvířat, a to je v pořádku. Často poukazuje na trendy, sice to není signifikantní, ale má to trend, stoupající trend, klesající trend, atd. Je skutečně nutné striktně rozlišovat statistickou významnost, protože to je jediný přesvědčivý důkaz, nebo zvolit více statistických metod a ty srovnat. Ale mluvit jenom o trendech, nebo o náznacích trendů, není úplně koherentní.

Výsledky dokazují význam Nogo-A modelu. Autor správně poznamenává, že modely schizofrenie nejsou dobře interpretovatelné, protože přesně neznáme všechny faktory, které schizofrenii způsobují. Jedná se o faktory genetické, ale i epigenetické. Nicméně určitý model jedné části schizofrenního procesu na potkanech L2 je možné použít k další práci.

Co se týče literárního zpracování, tak autor má práci napsanou velice dobře. Nevyhnul se zbytečnému používání pasiv, což obvykle kritizují. Celkem použil 70 x výrazy pasiva dojde, dochází, vede, vedoucí apod. Stejně tak je několikrát použito slovo tzv. Tzv. to je alias, ale ve vědě s tím nepočítáme. Lidé by se měli naučit správně psát česky, protože čeština je aktivní jazyk, ne pasivní jako němčina nebo angličtina.

Otázky:

1. Především otázka zpracování literatury. Zajímalo by mne, jestli autor literaturu zpracoval opravdu tak, že četl všechny práce in extenso, nebo jde pouze o čtení abstrakt?
2. Jaká je vlastně klinická aplikovatelnost projekce do klinické praxe. Autor v závěru píše, co by chtěl všechno ještě dělat. To je záslužné, ale pořád je to na úrovni experimentální. Mě by zajímalo, že kromě zkoušení farmak, které se tady nabízejí má ještě další klinickou projekci u zvířat, která by se mohla uplatnit i u člověka.

Domnívám se, že práce je skutečně pionýrská, protože směřování at' již klinické nebo modelování na jednotlivé genetické a epigenetické faktory chorob je skutečně významné. Práce byla udělána velmi pečlivě, je přesvědčivá a svědčí o tom také publikované výsledky.

Na základě všech těchto skutečností doporučuji, aby panu Mgr. Tomáše Petráskovi byl udělen titul Ph.D. za jménem podle § 47 zákona o Vysokých školách č. 111/1998 Sb.

prof. MUDr. Richard Rokyta, DrSc., FCMA