

## Oponentský posudek na dizertační práci Mgr. Simony Moravcové:

### **„Modulace signální dráhy JAK/STAT v suprachiasmatickém jádře hypotalamu potkana“**

Předkládaná dizertační práce se zabývá studiem interakce cirkadiálního a imunitního systému se zaměřením na roli transkripčních faktorů rodiny STAT v suprachiasmatických jádrech hypotalamu potkana. Práce také zkoumá vliv endotoxinu lipopolysacharidu na JAK/STAT signální dráhu a cirkadiální hodiny v suprachiasmatických jádrech hypotalamu.

V souvislosti s prokázaným zapojením poruch cirkadiálního systému do rozvoje nejrůznějších patofyziologií a chronických onemocnění považují zaměření dizertační práce za vysoce aktuální. Úloha STAT proteinů v suprachiasmatických jádrech navíc nebyla doposud nikým studována.

Práce je psaná česky a je členěna klasickým způsobem. Literární přehled poskytuje potřebné informace pro pochopení problematiky a stavu současného poznání. Drobnou výtku zde mám pouze k relativně malému prostoru věnovanému nedávno objevené důležité roli astrocytů v cirkadiálním systému. Cíle dizertační práce jsou jasně formulované a odrážejí se v členění jednotlivých podkapitol výsledkové části. Popis používané metodiky je detailní a zcela dostačující. Kvalitně zpracovaná diskuze uceleně shrnuje význam získaných výsledků a zasazuje je do kontextu současného poznání. Celkově je práce sepsaná pečlivě, přehledně a čtivě.

Podkladem dizertační práce jsou dvě prvoautorské publikace. V první části práce se autorce podařilo identifikovat a lokalizovat transkripční faktory rodiny STAT v buněčných typech suprachiasmatických jader. Důležitým zjištěním je, že STAT3 protein i jeho mRNA vykazují v suprachiasmatických jádrech denní rytmus, což dokazuje regulaci tohoto transkripčního faktoru cirkadiálním mechanismem. Druhá část práce se zabývá stimulací imunitního systému pomocí systémové aplikace lipopolysacharidu a jeho vlivu na cirkadiální systém na behaviorální a molekulární úrovni. Autorka odhalila signifikantní změny v expresi hodinových genů a vybraných kináz v odpovědi na aplikaci lipopolysacharidu a také odlišnou kinetiku obnovení rytmu v pohybové aktivitě v závislosti na čase podání tohoto infekčního agens. Lipopolysacharid také vyvolal změny v expresi Stat3 mRNA a rozdílů v indukcii fosforylace STAT3 proteinu v závislosti na denní době jeho aplikace. Získané výsledky poukazují na odlišnou citlivost organismu k zánětlivým stimulům v závislosti na denní době a zdůrazňují tak důležitost zapojení cirkadiálních hodin do regulace zánětlivé odpovědi.

Z hlediska metodiky je dizertační práce na velmi dobré úrovni. Autorka zvládla náročné cirkadiální *in vivo* experimenty s laboratorními zvířaty včetně analýzy dat jejich pohybové aktivity a osvojila si techniky: *in situ* hybridizaci, laserovou mikrodisekci, měření genové exprese pomocí metody qPCR, detekci a lokalizaci proteinů pomocí imunohistochemie a konfokální mikroskopii.

Celkové hodnocení: Dizertační práce Mgr. Simony Moravcové je založená na kvalitních experimentálních výsledcích publikovaných ve dvou impaktovaných vědeckých časopisech. Mgr. Moravcová je navíc hlavní autorkou další publikace bez přímého vztahu k dizertační práci a spoluautorkou na dalších šesti publikacích, z čehož usuzuji na její široké odborné zaměření a důležitou roli v rámci pracovní skupiny. Dle mého názoru autorka jasně prokázala

schopnost samostatné vědecké práce a splnila požadavky kladené na kvalitu dizertační práce. Předkládanou dizertační práci tudíž jednoznačně doporučuji k obhajobě.

Otázky:

1. V nedávné době byla prokázána klíčová role glutamátu v komunikaci mezi astrocyty a neurony suprachiasmatických jader. Je známo, zda má lipopolysacharid vliv na glutamatergní signalizaci?
2. Existují práce zabývající se vlivem lipopolysacharidu na suprachiasmatická jádra v *in vitro* podmínkách? Pokud ano, jaké jsou jejich výsledky a jak tyto výsledky korelují s poznatky ve Vaší dizertační práci?
3. Je známo něco o roli mikroglií v interakci cirkadiálního a imunitního systému?

V Praze dne 25/8/2021

Mgr. Lenka Polidarová, PhD