

## OPONENTSKÝ POSUDEK

disertační práce Mgr. Ivany Kramárikové „Úloha neuropeptidů při stresu a patofyziologii EAE“.

Předkládaná dizertační práce „Úloha neuropeptidů při stresu a patofyziologii EAE“ Mgr. Ivany Kramárikové je výsledkem jejího postgraduálního studia v Doktorském studijním programu v biomedicíně, obor Farmakologie a toxikologie. Školitelem byl prof. MUDr. Ondřej Slanař, Ph.D. a konzultantkou Mgr. Danica Michaličková, Ph.D. Dizertační práce byla vypracována v Laboratoři neurofarmakologie ÚLBLD a jinde, viz dotazy.

Disertace má 98 stran a následuje seznam literatury (16 stran). Práce je psána v českém jazyce. Vlastní dizertace začíná celkovým Souhrnem, kde je zdůrazněn cíl a výsledky práce. Následuje abstrakt v českém jazyce a anglickém jazyce. Dále následuje Obsah s klasickým členěním kapitol a Seznam zkratk. Úvodní teoretická část má 29 stran, Cíle práce jsou uvedeny na jedné straně, Metodika je v této práci důležitou součástí a je popsána na 20 stranách. Výsledky jsou prezentovány na 25 stranách. Diskuse a Závěry tvoří 9 stran. Před Seznamem literatury jsou umístěny vlastní publikace Mgr. Kramárikové

Dizertační práce se zabývá studiem neuropeptidů, především galaninu za fyziologických podmínek a při akutním a chronickém stresu a v experimentálním modelu roztroušené sklerózy, resp. experimentální autoimunitní encefalomyelitidy (EAE).

Úvodní část přináší přehledné informace o stresu, úloze neurohormonů, galaninergním systému, o kortikotropin uvolňujícím hormonu (CRH) a CRH systému. Na závěr literárního přehledu je pojednáno o roztroušení skleróze (RS) jako neurodegenerativním onemocnění a používaném experimentálním modelu u myší. Z literárního přehledu je vidět, že doktorandka má dobré teoretické znalosti, které byly předpokladem pro experimentální část práce. Možná by bylo vhodnější ještě více cílit jednotlivé subkapitoly k názvu práce a věnovat se ještě podrobněji modelům stresu a RS. Epidemiologické údaje by se měly objevit na začátku popisu onemocnění.

Hypotéza je jasně formulovaná a jednotlivé tři cíle jsou přehledně uvedeny. Jeden z cílů je metodický a představuje nastavení optimálních podmínek pro expresi galaninů a receptorů v adenohipofýze laboratorního potkana. Druhým cílem bylo dokumentovat roli CRH a receptorů pro CRH v adenohipofýze při stresu pomocí knock-outovaných myší. Třetí cíl je dokumentovat úlohu galaninu a receptorů pro galanin u myšího modelu roztroušené sklerózy.

Pro dosažení jednotlivých cílů byla použita řada adekvátních metod, především western blot, real-time PCR a imunohistochemická analýza. U metody western blot autorka vypracovala vlastní citlivou detekci exprese galaninu a použila ji k interpretaci vlastních výsledků. Je třeba ocenit práci doktorandky se zvířaty. Práce na zvířatech, navíc ještě s různými modely onemocnění je časově náročná a sladit ji s analytickými přístupy, které vedou k dosažení výsledků, není vždy úplně jednoduché. Výsledky ukazují, že doktorandka toto vše zvládla.

Výsledky práce jsou prezentovány podle dílčích cílů. Někdy má doktorandka tendenci směřovat „prostá fakta výsledků“ s diskusí, která by na druhou stranu mohla být delší. Je zřejmé, že bylo získáno značné množství zajímavých výsledků, týkajících se exprese galaninů a jejich receptorů za fyziologických podmínek a po stresu. Zajímavá je i kolokalizace s adrenokortikotropním hormonem (ACTH) v adenohipofýze. Novými nálezy jsou rovněž změny exprese jednotlivých subtypů galaninergních a CRH receptorů při stresu. V neposlední řadě by prokázána distribuce GALR1 v gliových buňkách v modelu EAE. Výsledky doktorandky jsou v literatuře zcela nové a podstatné. Zároveň to ukazuje, že ve výzkumu galaninergního systému je mnoho neznámých a bylo by pěkné v něm pokračovat.

Celá práce je bohatě citována, někde by mohly být i současnější údaje. Nicméně je vidět, že autorka má velmi dobrý přehled. Zároveň ukázala složitost studované problematiky v oblasti stresu a neurodegenerativních onemocnění. Předkládaná práce má jasně experimentální charakter a výsledky mohou přinést podněty pro farmakoterapeutické ovlivnění stresu či autoimunitních / neurodegenerativních poruch ovlivněním neuropeptidů, včetně galaninů, jak všichni doufáme.

Předkládaná práce je doložena pěti publikacemi k dané problematice výzkumu neuropeptidů. Mgr. Kramáriková zcela splnila publikační aktivitu včetně prvoautorské publikace. Je proto možno konstatovat, že cíle práce byly zcela splněny. Mé poznámky a otázky nijak nesnižují originalitu a význam dosažených výsledků. Následné dotazy či připomínky jsou zaměřeny na upřesnění údajů týkajících se teoretického úvodu, experimentálních metod a interpretace výsledků.

### **K práci mám tyto připomínky a dotazy:**

#### **Formální:**

K předkládané práci mám více formálních připomínek, než bývá v jiných disertacích. .

- V názvu práce by neměla být zkratka (EAE)
- Dotaz, co je za pracoviště/instituci ÚLBDL a kde jinde jste v práci pokračovala/vykonávala.
- Nezarovnané řádky zprava - špatně se čte, kromě snížení estetické úpravy
- Četné překlepy, např. str. 27, 29, 36, 37, 49, 53, 56, 69, 80, 90, 91.
- Str. 45 - „zvěřinec“ – patrně je myšlena chovná nádoba na zvířata; vyskytlo se i slovenské slůvko (str. 90 – počas), problematičké je i slovo software, resp. v textu je softvér.
- zlepšit preciznost vyjadřování, např. str. 45: etická komise 1. LF - pravděpodobně se jedná o EK pro práci se zvířaty; str.92, 3.odst. ...“obou receptorů“ (obou typů receptorů)
- Str. 65: Autorka popisuje, že rozděluje výsledky do 4 částí. Škoda, že autorka v textu více nezdůraznila vztah k vlastním publikacím.

**B) Dotazy:**

- Str. 83, 3. odst. – věta: „Naše výsledky ukazují...“ co je míněno slovem aktivita a aktivita čeho a exprese čeho? Celý odstavec by mohl být navíc v diskusi.
- Str. 69-70, Výsledky 4.1.2. se mi zdají příliš zkratkovité, viz pravá a levá část obrázku č. 12, prosím podrobněji rozvést.
- Str. 88, obr. 23: jádra jsou obarvena modře (F, H)?
- Je něco známo o vyřazení galaninu u zdravého jedince nebo příp. pacienta?  
Je něco známo o vztahu nikotinu a CRH na úrovni in vitro a in vivo ?

**Závěr:** na základě výše uvedených skutečností konstatuji, že předložená práce „**Úloha neuropetidů při stresu a patofyziologii EAE**“ Mgr. Ivany Kramárikové splňuje požadavky kladené na doktorskou disertační práci v daném oboru a dokumentuje schopnost autorky samostatně vědecky pracovat na odpovídající úrovni. Doporučuji proto uvedenou disertační práci k obhajobě, na jejímž základě může být udělen akademický titul doktor (Ph.D.) podle § 47 Zákona o vysokých školách č. 111/98 Sb.

V Praze, 23. března 2022

Doc. RNDr. Eva Křmoníčková, CSc.



