

## **Posudek na doktorskou dizertační práci Mgr. Ewy Katarzyny Szczurowské**

**Název: Vývojové změny vybraných podjednotek NMDA a AMPA receptorů a účinky jejich antagonistů ve fyziologických a epileptických dějích**

školitel prof. MUDr. Pavel Mareš, DrSc., FCMA

Doktorská dizertační práce Mgr. Szczurowské je předložena na 137 stranách včetně literatury. Autorka se v úvodu velmi podrobně a důkladně zabývá popisem vývojových změn, zejména různých receptorů především AMPA a NMDA. Tuto část práce velmi oceňuji, protože je to velmi důležitá část, která popisuje ontogenezu vývoje těchto receptorů a která může být i klinicky využita.

Autorka se zabývá i úlohou těchto receptorů ve status epilepticus a zejména v modelech lithia a pilocarpinu. Velmi důležitá je část, která studuje senzitivitu epileptogenních látek, což má později význam pro další vývoj, takže tato část je zpracována velmi dobře a pečlivě.

Autorka si stanovila hypotézy a i cíle práce. Celkem stanovila 3 hypotézy a 3 cíle práce. Ty se vzájemně trošku prolínají, nicméně splňují úlohu hypotetického zadání.

V kapitole Materiál a metody popisuje velmi rozsáhlé metodiky, které autorka použila při svém studiu. Vedle zmíněného status epilepticus jsou to další metody, zejména elektrofyziologické, kterých je několik, dále i metoda western blocking. Z elektrofyziologických metod jsou to především metody, které se používají tradičně v laboratoři prof. Pavla Mareše, metoda afterdischarges - metoda následných výbojů, dále potom metoda EEG, metoda vyvolaných potenciálů několika pulsy.

Velmi si cením toho, že autorka studovala ontogenetické změny a že zvládla příslušné metody.

Co se týče výsledků, je jich veliké množství a většina z nich je velmi cenná. Některé výsledky byly nutné i proto, aby umožnily další studium. Výsledky jsou velmi důkladně zpracovány v diskuzi. V jsou rozebírány různé možnosti a metody, které autorka použila. Z původních nálezů bych ocenil zejména to, že určila glutamátové receptory NMDA a AMPA. Popsala vývojové změny a určila, že ze začátku vývoje je větší množství NMDA receptorů, které obsahují RM 2B podjednotku a je malá přítomnost AMPA receptorů, která obsahuje GluA2 podjednotku v nezralém mozku. To má za následek, že je vysoká excitabilita a tím i vznik záchvatů, dále excitotoxicita a zánik neuronů v této rané části vývoje. Dalším nálezem je specifický antagonist

AMPA IEM 1460, který měl vliv na různé typy záchvatů podle místa vzniku, podle stádia vývoje a expresi GluA2 podjednotky. Je důležité, že antikonvulzivní působení jsou různá. Další látku, kterou autoři popsali je RO25-6981, což je to selektivní antagonist NMDA receptorů, které obsahují podjednotku. Tato látka má výraznou antikonvulzivní aktivitu, která je závislá na věku a na aktivaci NMDA receptorů. Autoři popsali celý vývojový profil exprese podjednotek NR2B, NR2A a GluA2. Tam jsou právě důležité vztahy pro působení epileptických látek. Důležité je, jak již jsem se zmínil, že autoři se zaměřili i na genetickou část. Studovali geny GRIA 2A, GRIA 2B a Glu2A v 6 oblastech mozku potkanů a sice ve 3 korových oblastech - frontální parientální a okcipitální kůře a ve 2 oblastech dorzálního a ventrálního talamu. Bohužel u talamu nebylo určeno specificky v které oblasti byla studie provedena.

Expresie jednotlivých částí jsou různé s věkem, někde stoupají GRIN2A NMRA zatímco GRIN2B NMRA lehce klesají. Mění se i poměr jednotlivých genů. Také se ukázalo, že status epilepticus, který je vyvolaný dvanáctý den po narození dramaticky mění expresi GRIN2A NMDA a GluA2 proteinu během vývoje a to až do dospělosti. Stejně tak byla zvýšená exprese GRINA2 genů GluA2 proteinů v dorzálním hipokampu, což je až do dospělosti. To znamená, že dorsální hipokampus má některé endogenní antiepileptické mechanismy, které se uplatní zejména po status epilepticus. Tato struktura je důležitá protože může být zranitelná již během vývoje excitotoxicitou, ale také může být zranitelná i v dospělosti. Tuto část o vztazích jednotlivých genů považují za velmi důležitou.

Ukazuje se, že jejich vzájemný vztah mění excitotoxicitu, mění sklon k vyvolávání záchvatů a mění také reakci na excitotoxicitu. To jsou hlavní výsledky, které jsou velmi prioritní a důležité. Byly také publikovány ve významných mezinárodních časopisech.

Práce je napsaná anglicky velice dobře. Literatura je velmi obsáhlá, celkem má 287 položek. Ve vlastní literatuře autorka cituje 5 společných prací s prof. Pavlem Marešem. Myslím, že by bylo dobré uvést výši jednotlivých impact faktorů v době, kdy práce byly publikovány.

Moje dotazy:

1. Proč v celé práci nejsou určeny jednotlivé části talamu. Je tam pouze obecně talamus, ale není tam, která jeho část anebo která talamická jádra ze kterých byly tyto výsledky získány a to ani elektrofyziologicky a ani biochemicky.

2. Jsou již nějaké klinické studie o možném účinku látky IEM 1460, zda se širší aplikace uvažují, nebo jestli byly již provedeny. Stejně tak látka RO 25 69 81. To jsou látky, kde je asi možnost aplikace získaných základních poznatků do kliniky.

**Závěr:** práce vykazuje všechny pozitivní efekty, jak ve zpracování, tak ve výběru literatury a tématu. Autorka velice dobře zvládla rozsáhlou metodiku zejména elektrofyzilogickou, ale i genetickou a biochemickou a prokázala jednoznačnou schopnost samostatné vědecké práce.

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

**prof. MUDr. Richard Rokyta, DrSc., FCMA**