

Posudek na doktorskou disertační práci Mgr. Ewy Ktarzyny Szczurowské

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

Disertační práce se na sto třiceti sedmi stranách zabývá studiem vlivu specifických antagonistů NMDA 2B podjednotky a AMPA receptoru propustného pro vápník na patofyziologické změny v aktivitě mozku u mladých potkanů. Práce také popisuje patologické změny v expresi podjednotek NR2A a NR2B ve vývoji mozku po experimentálně indukovaném statu epilepticus. Základem práce jsou elektrofyziologické záznamy aktivity kortexu, a kvantitativní PCR a Western blot identifikující jednotlivé podjednotky glutamátových receptorů. Autorka dopěla k několika závěrům, z nichž nejzajímavější je z mého pohledu informace o tom, že experimentálně indukovaný epileptický záchvat může měnit vývojový profil exprese genů podjednotek glutamátových receptorů.

Úvodní část práce předkládá na šestnácti stranách velice přehledně základní informace o ontogenezi vzniku epileptických záchvatů, způsobech jejich vyvolání u modelových zvířat a o vývoji exprese excitačních glutamátových receptorů. Úvod také jasně definuje pojmy, se kterými dál pracuje v textu.

Vysoce hodnotím kapitolku s vytýčenými cíli, kterým předchází popis pracovních hypotéz. Tyto forma poskytuje srozumitelné rozčlenění práce do jednotlivých kapitol a usnadňuje následnou orientaci v textu. Je poněkud škoda, že závěry práce nejsou zpracované také do podobného stručného a jasného formátu.

Metodika o osmi stranách vyčerpávajícím způsobem popisuje experimentální přístupy, od jasného popisu elektrofyziologických měření po kvantitativní analýzy mRNA a proteinu sledovaných podjednotek glutamátových receptorů. Domnívám se, že kdyby byla metodická část obohacena o ilustrativní zobrazení jednotlivých oblastí mozku, ze kterých byly odebrány vzorky pro PCR a western blot, ať již nákresem nebo fotografií, ztratil by i čtenář neujištěný o záruce správnosti výběru dobrým jménem domovské laboratoře pochybnosti o tom, jestli vzorky, např. parietálního kortexu 12-denních mláďat, byly odebrány ve správných hranicích.

Velice obsáhlou kapitolou je výsledková část, která na 63 stranách dává velmi pečlivě zpracovaný přehled získaných dat. Jednotlivé kapitoly výsledkové části jsou systematicky rozděleny a přehledně popisují dílčí experimenty. Každá kapitola je ukončena shrnutím získaných dat.

Z diskuse rozepsané na dvaceti šesti stranách je zjevné, že autorka má značný přehled o literatuře v daném oboru, dobře tématu rozumí a je schopna systematicky a kriticky zhodnotit jednotlivé nálezy a porovnat je s dostupnou literaturou.

Formální výtky:

- na stránce 15 je odkaz na tabulku 2, ze smyslu ale vyplývá, že se mluví o tabulce 1.
- na stránce 12 (ř. 7) se praví, že konvulzivní účinky kyseliny kainátové u mláďat byly studovány 4 laboratořemi. V textu jsou ale následně jmenované pouze tři.
- poslední věta na stránce 22 je poměrně nesrozumitelná a zdá se, že vznikla nepozornou editací závěrečné verze textu
- v textu je několik formálních nedostatků typu překlepů, chybějících horních indexů, proloženého písma apod., vše však v odpustitelné koncentraci

Na autorku mám tyto otázky:

1) V úvodní části autorka uvádí, že podjednotka GluA2 poskytuje iontový kanál nepropustný pro vápníkové ionty. Zároveň také říká, že tato podjednotka podléhá Q/R editaci, která mění permeabilitu pro vápník a podjednotka se stává nepropustná pro vápník pouze ve své editované formě. Bylo by možné popsat vývojové změny v jednotlivých částech mozku a vliv SE z hlediska změny propustnosti GluA2 pro vápník? Může zvýšená exprese GluA2 vést automaticky k domněnce, že AMPA receptory v dané oblasti mají sníženou propustnost pro vápník? Na čem závisí Q/R editace v jednotlivých částech mozku? Je regulovaná také ontogeneticky?

2) V úvodu autorka mimo jiné uvádí, že hladina NR2A podjednotky je nízká v časném vývoji díky posttranskripčním modifikacím, které regulují její syntézu. Bylo by zajímavé vědět, jaký je v tomto případě rozdíl v posttranskripčních modifikacích mezi NR2A a NR2B podjednotkami za vývoje.

Závěr: předkládaná doktorská dizertační práce obsahuje velké množství původních dat získaných několika náročnými technikami. Je velmi přehledně napsaná a jednoznačně prokazuje autorčiny detailní znalosti problematiky, velký zájem o zvolené téma a schopnost zvládnout náročnou metodiku. Několik formálních výtek uvedených výše neovlivňuje srozumitelnost textu a v žádném případě nesvědčí o nedostatcích experimentálních. Předkládanou disertační práci proto vřele doporučuji k obhajobě.