

## Vyjádření k disertační práci MUDr. Anny Kubešové - **Histomorfologický, biochemický a behaviorální profil animálních modelů schizofrenie.**

Disertační práce MUDr. Anny Kubešové – **Histomorfologický, biochemický a behaviorální profil animálních modelů schizofrenie**, má 86 stran textu, 240 položek použité literatury a přílohu obsahující 3 publikace, ve kterých je Dr. Kubešová spoluautorkou. Text je doprovázen 22 obrázky a jednou tabulkou.

Disertace je členěna do 5 kapitol, šestou kapitolou je seznam publikací autorky a dále následuje seznam použité literatury, seznam publikovaných prací doktorantky a příloha.

V první kapitole jsou formulovány tematické okruhy studie a to jsou animální modely schizofrenie. Mezi hlavní cíle práce patří (1) objasnění vlivu časné imunitní reakce na strukturální a biochemické změny u modelu časné imunitní stimulace, b) srovnání vlivu dvou psychofarmak (mezkalin a psilocin) na funkční konektivitu mozku a c) analýza vlivu 2C-B na lokomoci a na hladiny dopaminu v nc. Accumbens.

Druhá kapitola je podrobnou literární rešerší zaměřenou na etiologii a psychopatologii schizofrenie, na strukturální změny mozku nemocných schizofrenií, včetně objemových změn hemisféry a jejich součástí, dále na strukturální změny hippocampu, na postižení gliových buněk a na biochemické změny v CNS u schizofrenie, včetně změn v metabolismu tryptofanu.

**Otázka :** má autorka nějaký důvod, proč ve výčtu strukturálních změn nejsou uvedeny změny inhibičního korového mechanismu, zejména redukce v subpopulaci Gabaergních interneuronů exprimujících kalcium vázící protein Parvalbumin a a neuropeptid Somatostatin ? Funkční charakteristiky inhibičních interneuronů exprimujících Parvalbumin jsou uváděny do souvislosti s deficitem gamma pásma a s poruchami synchronizace neuronů, které jsou popisovány u nemocných. Kromě toho redukce Parvalbumin pozitivních neuronů ve III. korové vrstvě (prefrontální kortex) je uváděna do souvislosti se zvýšením jejich počtu v podkorové bílé hmotě téže korové oblasti. Tyto změny svědčí o alteraci migračních proudů těchto interneuronů ze striatových hrbolků a podporují význam vývojových procesů v etiopatogenezi onemocnění.

Třetí kapitola je přehledem animálních modelů, které se v současnosti používají při experimentálním studiu schizofrenie. Tato kapitola je exploatací rozsáhlé studie Jonese a spol. (2011) a zahrnuje modely farmakologické, (dopaminový, glutamátový, serotoninový a GABA model), vývojové (antimitotické látky, sociální izolace, imunitní aktivace), leze mozkových struktur a modely genetické.

Ve speciální části disertace jsou shrnuty výsledky tří publikovaných studií, které jsou podkladem disertace a jejichž výsledky jsou v disertaci podrobně popsány a diskutovány.

### **Studie 1 : Biochemický, histopatologický a morfologický profil animálního modelu časné imunitní stimulace ...**

Mezi nejzávažnější výsledky první studie, ve které je sledován vliv perinatální imunitní aktivace po aplikaci LPS patří :

zvýšení hladin dopaminu a jeho metabolitů (striatum, prefrontální kortex, hippocampus), zvýšení hladin kynureninu a jeho metabolitů, zvýšení hladiny tryptofanu a metabolitů kynureninové dráhy,

zvýšená hladina chinolinové kyseliny, která vyvolává excitotoxicitu.

Hladina GABA byla snížena v hippocampu a v prefrontálním kortexu. Nebyly prokázány změny mikroglie, ale v některých strukturách byla nalezena hypertrofie astrocytů (hippocampus, subst. Nigra), v subst. Nigra - pars compacta byl prokázán úbytek dopaminergních neuronů.

**Otázka :** autorka uvádí, že u tohoto modelu nejsou prokazatelné FJB – pozitivní neurony, z čehož dovozuje, že nedochází k degeneraci neuronů a k buněčné smrti v analyzovaných strukturách. To je v rozporu s popisovanou redukcí objemu hippocampu, kterou si lze obtížně představit bez úbytku neuronů, nebo jejich dystrofických změn. Hypertrofie astrocytů v hippocampu a v subst. Nigra (pars compacta) rovněž svědčí pro neuronální degeneraci. Prosím, aby se autorka vyjádřila k negativnímu nálezu při barvení s použitím FJB. Jak vysvětlit objemové změny některých struktur (zvětšení objemu v globus pallidus a zmenšení objemu v thalamu) ?

### **Studie 2 : Srovnání vlivu halucinogenů Psilocinu a Mezkalinu na kvantitativní EEG a sensorimotorické zpracování informací.**

Mezi hlavní výsledky této studie patří : obě látky snižují prepulsivní inhibici úlekové reakce na akustický signál. Tento nálezn reprodukuje obdobné výsledky u nemocných se schizofrenií. EEG studie prokázaly snížený výkon v několika frekvenčních pásmech EEG, zejména v pásmu theta (Psilocin) a delta (Mezkalin). Rovněž byly ve všech pásmech sníženy intra – a interhemisférické koherence. Obdobné deficity se vyskytují i u nemocných se schizofrenií a dosažené výsledky umožňují srovnání serotoninového a glutamátového modelu schizofrenie.

**Otázka :** je možné vysvětlit změny v koherenci a ve snížení EEG výkonu strukturálními a funkčními změnami inhibičního korového systému ?

### **Studie 3 : Behaviorální, neurochemický a EEG profil psychedelické drogy 4-bromo-2,5-dimetyloxyfenyletylaminu (2C-B) u potkana.**

Hlavní výsledky studie : Aplikace 2C-B vedla k počátečnímu poklesu lokomoce, který byl po 1 hodině následován vzestupem. Po aplikaci této látky rovněž dochází k poškození sensorimotorického zpracování informace a ke změnám úlekové reakce. Dochází rovněž ke zvýšení výdeje dopaminu v Nc. Accumbens a ke změnám v řadě metabolitů dopaminu a souvisejícího enzymatického aparátu. Analýza EEG záznamu prokázala pokles výkonu ve vysokých frekvenčních pásmech a zvýšení koherence v závislosti na dávce.

**Otázka :** bylo zvýšení výdeje dopaminu lokalizováno výlučně do nc. Accumbens ? V poslední době je prokazována v řadě adiktivních situací zvýšená aktivace i ve ventromediální oblasti striata.

Oblast neurovědního výzkumu, jehož výsledky autorka předložila patří mezi mimořádně závažnou jak z hlediska medicínského tak z hlediska společenského. Onemocnění jako takové představuje závažný diagnostický problém a proto je cílem mnoha výzkumných aktivit klinických i experimentálních. Svědčí pro to i řada experimentálních modelů, které jsou ve výzkumu používány a jsou zaměřeny na některé aspekty lidské schizofrenie. Je třeba zdůraznit, že řada předložených výsledků disertace má charakter základního výzkumu a významně posouvá úroveň poznání v této oblasti.

Vědecká aktivita autorky je doložena v publikovaných pracích. Celkem publikovala jako spoluautor 4 práce v mezinárodních časopisech s IF a a čtyři práce v časopisech bez IF.

V textu disertace autorka prokázala velmi dobrou orientaci v rozsáhlé literatuře, která je experimentálními modely schizofrenie věnována a velmi dobrou znalost problematiky morfometrických, neuropathologických, elektrofyziologických a behaviorálních metodik a jejich

interpretace. Výsledky studií na kterých se dr. Kubešová podílela přinesly řadu prioritních pozorování a interpretace těchto výsledků a jejich začlenění do literárního kontextu má vysokou úroveň. Výsledky všech studií potvrdily předpokládané hypotézy. Text disertace je psán přehledně, autorka přesně formuluje.

Protože studie zařazené do disertace jsou vždy dílem několika autorů, prosím o vyjádření na jaké části experimentálních studií a v jaké oblasti přípravy publikací se autorka přímo podílela.

Vzhledem k tomu, že autorka předložené disertace prokázala schopnost samostatné vědecké práce v metodicky velmi obtížné oblasti a splnila všechny předepsané zákonné podmínky pro udělení titulu PhD. doporučuji, aby po úspěšné obhajobě disertace a po zodpovězení otázek jí byl titul udělen.

V Praze 12. 11. 2015

  
Prof. MUDr. Rastislav Druga, DrSc.  
Anatomický ústav 2. LF UK v Praze