

## **Oponentský posudek na dizertační práci Mgr. Barbory Valáškové: "Léčba míšního poranění cílená na sekundární poškození".**

Předložená dizertační práce Mgr. Valáškové je zpracována na 94 stranách včetně literatury, která obsahuje 239 položek. Bez tohoto literárního přehledu tvoří práce 77 stran. Dizertační práce je doplněna 4 pracemi v impaktovaných časopisech na jejichž základě byla práce konstruována. Z toho je Dr. Valášková (dříve Svobodová) jednou 1. autorkou a třikrát je spoluautorkou. Důležité je, že při rozboru této práce Dr. Valášková uvádí svůj podíl na jednotlivých pracích, protože je tam přece jen několik autorů a je velmi důležité, aby oponent měl přehled o tom, co skutečně sama autorka vykonala.

Téma práce je velmi záslužné a závažné, protože míšní poranění, to znamená přerušení míšní - totální u člověka - zatím bohužel i přes všechny snahy nemá řešení v nějaké úspěšné léčbě. Ukázalo se, že i ti pacienti, kteří byli uváděni jako úspěšné léčení, neměli vždy zcela úplně přerušenu míchu. Proto každý pokus o to, aby se nějakým způsobem zlepšila terapie míšního poranění je záslužný a závažný. A tady je velmi důležité to, jak musíme práci posuzovat - je to experimentální práce provedená na myších.

Autorka sama píše, že v současné době neexistuje žádná efektivní léčba, ale také zdůrazňuje, že po mechanickém poranění míchy se spouští kaskáda mnoha sekundární dějů, které se rozšiřují a zhoršují poškození. V této dizertační práci autorka experimentálně studuje možnosti, které by celou situaci mohly zlepšit. Především je to fotobiomodulace (FBM). Fotobiomodulace je velmi dobrá metoda, která by nám mohla pomoci tuto záležitost vyřešit. Další jsou aplikace některých látek jako EGCG což je: Epigalokatechin-3-galát, a dále: kurkumín a jeho další sloučeniny.

V úvodu své dizertační práce se autorka zabývá míchou, jejím popisem, také samozřejmě popisem míšního poranění, ale velmi zásadně se zabývá experimentálními modely poškození. Model, který se používá v laboratořích Ústavu experimentální medicíny je velmi dobrý a hodně napodobuje experimentální poškození, které je i u člověka. Pak jsou rozebrány možnosti léčby, to znamená především fotobiomodulace a přírodní látky, které ovlivňují sekundární poškození a to je Epigalokatechin-3-galát a Kurkumin. Velmi oceňuji, že autorka zvolila 2 kapitoly a to: hypotézy a cíle práce zvlášť. Hypotézy jsou dobře napsané, ale musí být napsány jako otázky, to znamená, musí být v hypotéze otázka, na kterou se má odpovědět. Dokonce podle hlavního teoretika hypotéz prof. Karla Poppera je hypotéza tehdy správná, pakliže ji můžeme vyvrátit. Zatímco většina prací (je to dáno tlakem farmaceutického průmyslu) chce více méně kladné výsledky. Ale výsledky mohou být také záporné. Čili ty čtyři hypotézy, jak jsou napsané, tak by měly být uvedeny s otázkami. Něco jiného jsou cíle práce, ty jsou naprosto v pořádku.

Velmi oceňuji, že autorka má rozsáhlý experimentální materiál. Metodika prací byla schválena všemi příslušnými komisemi a velice oceňuji, že u míšního poranění do toho autorka

zahrnuje i manuální vyprazdňování močového měchýře po provedeném zákroku. Měla několik testů: byl to test BBB, to je: Basso Beatie Besnahan, bohužel tuto metodu nemá ve svých zkratkách -což je cenná kapitola, ale BBB tam chybí. Obohacuje tuto metodiku o chůzi po tyči, což považuji za velmi dobrou metodikou, dále má kvantifikaci lokomoce, což je také důležitá část a samozřejmě je to vše doplněno velmi podrobnými testy histologickými a dále také imunochemickými analýzami. Je tam také polymerázova reakce, reakce a analýza cytokinů atd. Vše je dobře statisticky zpracováno.

V první části práce se zabývá vlivem laserového světla o vlnové délce 808 a 905 na regeneraci po míšním poškození. Velmi podrobně tuto část zpracovává. V další části se zabývá, jak byla zachována šedá a bílá hmota míšní, dále gliovou jizvou a růstem axonálních kolaterál. Za velmi důležitou považuji i analýzu mikroglíí a makrofágů, což je velmi důležité při této situaci. Zdá se, že ovlivnění laserovým zářením má určitou cenu, protože se situace zlepšuje a je tam určitý efekt. Stejně má efekt Kurkumín a jeho kombinace s Nanokurkumínem. Tam je cenná část pokusů s Nanokurkumínem, která mají neuromodulační efekt a ovlivňuje gliovou jizvu, stejně tak jako látka EGCG. Důležité je, že tyto látky, jak by se nabízelo, nemají synergický efekt, takže to není použitelné. Ovšem Kurkumín by se dal použít, ale není rozpustný ve vodě. Zatímco nanokurkumín, který autoři také použili i rozpustný ve vodě a ve fyziologickém roztoku. Co je společné všem těmto nálezům, které jsou velmi cenné a velmi dobře zpracované, je také to, že všechny metody, které autorka použila na zlepšování stavu po přerušení míšním, mají protizánětlivý účinek. A ukazuje se, že to je další důkaz toho, že zánět má velmi rozhodující úlohu u těchto nervových onemocnění. To je podobné, jako dnes u mnoha psychiatrických onemocnění, a zdá se, že je vše vždy doprovázeno zánětem. Nervový systém a zánět je relevantní otázka současné neurobiologie a boj proti zánětu je zároveň bojem proti poškození, která nastávají. To si myslím, že je velmi důležité a ukazuje se, že tyto látky mají určitý imunomodulační efekt a dokonce zlepšují některé motorické schopnosti, i když to nemohou úplně ovlivnit. Důležité je, že všechny tyto látky jsou protizánětlivé a tím protizánětlivým účinkem ovlivňují i gliovou jizvu. Všechny tyto látky, které byly použity, mají tedy imunomodulační efekt a jsou protizánětlivé. To si myslím, že je nejdůležitější z nálezů, a to je důležité, že to bylo prokázáno. Podstatné je také, že to musí být včasný zákrok po míšním poškození, zejména u dvou imitací těch dvou vlnových délek z komerčně dostupného laserového přístroje. Čili určitý terapeutický potenciál použití laseru tady je, ale samozřejmě nebyl zatím u člověka výrazně prokázán. Z druhé strany neovlivnil tvorbu gliové jizvy, tak jako to ovlivňují ostatní látky. Jako algeziologa mě zajímalo, že vždy při míšním poškození vzniká k hyperalgezie a jestliže například softilinový ligant nervového růstového faktoru je spojován se vznikem

hyperalgezie a když se použil laser, tak příslušná skupina zvířat snižovala sortilinový ligant NGF. Ten byl snížen a tím byla snížena také hyperalgezie. To je cenný náález, který by také mohl přispět k řešení.

V diskuzi autorka velmi podrobně rozebírá uvedené efekty, těch různých součástí, které aplikovala.

K práci mám tyto dotazy a připomínky: myslím, že autorka by měla uvést u svých publikací výši impakt faktoru. U modelů, které uvádí, že byli převážně na myších a na potkanech, tak je třeba doplnit, že byly použity také modely králíci a dokonce modely opic. Takže za největší náález považuji, že laser má zřejmě protizánětlivý vliv. Co se týče porozumění práce: ona rozlišuje 3 skupiny zvířat; a sice zdravá zvířata, kontrolní a léčená. Je otázka použít slovo kontrolní, což byla zvířata, která sice měla přerušeni míšní, ale nebyla léčena, takže tam bych zvolil jiný výraz. Velkou připomínku mám k češtině, kterou autorka používá. Ona zásadně stále používá slovo "došlo", "dochází" a "vede k". To je zlozvyk, který je zřejmě z toho, že saxonský genitiv nebyl vždy dobře použit.

Znovu opakuji, jde o velmi dobrou experimentální práci, kterou autorka prokázala, že umí pracovat, zvládá metodiky, u publikovaných prací vždy uvedla, jaký byl její vlastní podíl na příslušné publikaci. Zvládla širokou škálu metodik výborně, bohužel v češtině některé výrazy nejsou nejvhodnější. Svoji práci ukázala, že tento model je použitelný a tím prokázala také to, že je schopna postavit pokus, pracovat na něm a zároveň jej potom prakticky využít. Z hlediska praktického klinického využití je cesta dlouhá, myslím, že nejnadějnější je skutečně laserová terapie. Samozřejmě znovu musím zopakovat, že je to práce, která byla provedena na potkanech a že mnohé práce které byly provedeny na potkanech a vypadali jako velmi nadějně, v klinickém použití tu naději nesplnili. Na základě předložené práce a jejího zpracování doporučuji, aby za dizertační práci Mgr. Barbory Valáškové byl udělen titul Ph.D. za jménem podle § 47 zákona o Vysokých školách č. 111/1998 Sb.

prof. MUDr. Richard Rokyta, DrSc.