



Oponentský posudek na dizertační práci Mgr. Kateřiny Štěpánkové

Název: Zvýšení regenerace axonů a neuroplasticity po poranění míchy: *Využití poznatků z vývoje centrálního nervového systému k léčbě jeho poranění*

Dizertační práce Mgr. Štěpánkové si klade za cíl testovat indukci vývojových procesů ve vyvinuté CNS u modelových zvířat a analyzovat její vliv na regeneraci axonů a funkční zotavení po poranění míchy. Téma je velmi relevantní, protože traumatické, či netraumatické poškození míchy může vést k významným omezením v životě pacientů, či trvalé invaliditě a představuje tak velký zdravotní i ekonomický problém. Ve své práci Mgr. Štěpánková analyzuje možnost podpořit regeneraci dvěma způsoby 1.) redukcí inhibičního prostředí, které se tvoří okolo léze a 2.) naopak využitím inhibičního prostředí ve prospěch regenerace, kdy nadexprese integrinu $\alpha 9$ v sensorických neuronech umožní růst axonů po tomto prostředí.

Autorka práci vypracovala v laboratoři, která se danou problematikou dlouhodobě zabývá a měla tak vhodné prostředí pro její úspěšné dokončení. Práce je tradičně členěná na úvod, cíle a hypotézy, metody, výsledky, diskuzi, závěr, souhrn a literární odkazy, je napsaná velmi dobrou angličtinou a logicky strukturovaná.

Úvod velmi pěkně představuje problematiku míšních poranění a vnitřní a vnější faktory které ovlivňují regeneraci axonů s důrazem na mimobuněčný prostor a jeho složky během vývoje a poranění. Úvod je doplněn velmi přehlednými originálními schémata, která usnadňují pochopení jednotlivých mechanismů.

Cíle a hypotézy jsou jasně definovány a srozumitelně popsány, opět s grafickým znázorněním, které usnadňuje pochopení. Práce si klade 2 hlavní cíle:

1. Testování efektu perorální terapie odstraňující inhibiční chondroitin sulfát proteoglykany na zlepšení regenerace a plasticity míšních poranění
2. Charakterizaci vlivu nadexprese $\alpha 9$ integrinů pomocí adeno-asociovaných virů na rekonstrukci sensorických drah po poranění míchy.

Metody jsou popisují detailně použité metodiky.

Výsledky jsou také dobře strukturované a doprovázené obrázky s adekvátními popisky.

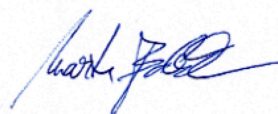
Diskuse dává získané výsledky velmi pěkně do kontextu s již publikovanými daty a celkově jsou výsledky shrnuty v sekcích **Závěr** a **Shrnutí**.

K prezentovaným výsledkům mám několik dotazů:

1. Autorka detailně testovala efekt dlouhodobé aplikace 4-methylumbelliferone (4-MU) potkanům. Její výsledky ukazují na to, že dlouhodobé užívání 4-MU nemá významný toxický, či negativní efekt, avšak autorka detekovala snížení síly předních končetin u potkanů po aplikaci 4-MU (nesignifikantní) a to i po vysazení léčby (signifikantní). Má autorka pro tento efekt nějaké vysvětlení? Negativní efekt na sílu předních končetin by mohl být kontraindikací pro použití 4-MU pro léčbu míšních poranění. Byl takový efekt již dříve popsán? Byly analyzovány i kontroly bez aplikace 4-MU, aby byl vyloučen efekt stárnutí zvířat?
2. Ve své práci autorka často posuzuje efekt léčebného postupu měřením imunofluorescence na řezech tkání. Přesná kvantifikace fluorescence a její porovnání u různých řezů však může být problematická a ovlivněna vysokou variabilitou, je v těchto případech možné použít pro kvantifikaci exprese různých markerů po SCI jiné metody (např. WB z odebrané tkáně) a byly tyto metody použity?
3. Měla nadexprese $\alpha 9$ integrinu spolu s kindlinem-1 efekt také na regeneraci motorických axonů? Byl na zvířecím modelu míšního poranění testován společný efekt aplikace 4-MU a nadexprese $\alpha 9$ integrinu spolu s kindlinem-1?
4. Druhý cíl práce je součástí manuskriptu, který je v současné době dostupný ve formě preprintu na bioRxiv a Mgr. Štěpánková je na něm první autorkou. Podobně jak to udělala u ostatních publikací by autorka měla popsat, jakým způsobem sama přispěla k prezentovaným výsledkům a psaní této publikace.

Celkově se jedná o podařenou dizertační práci, která je dobře vypracovaná a velmi pěkně napsaná v anglickém jazyce. Pochválil bych originální schémata začleněná do většiny kapitol, malé množství chyb a překlepů. (Kvalita dizertační práce do jisté míry kontrastuje s kvalitou její vazby, která se rozpadla již po prvním otevření.) Výsledky vědecké práce Mgr. Štěpánkové byly publikovány ve 6 publikacích s průměrným IF 5.2: 2 z nich jsou prvoautorské publikace vztahující se bezprostředně k dizertační práci, 4 se vztahují vzdáleněji k tématu a výše zmíněný preprint je, předpokládám, v recenzním řízení a mohl být do dizertace též vložen. Čtení práce do určité míry znesnadňuje používání velkého množství zkratk, které jsou sice shrnuty na začátku práce, ale ve velkém množství mohou činit čtení práce pro ty, kteří se nezabývají stejnou oblastí výzkumu míšních poranění, obtížnějším. Práci však přes tyto drobné formální nedostatky doporučuji přijmout k obhajobě a na základě úspěšné obhajoby pak udělit studentce akademický titul Ph.D.

V Praze dne 14. 6. 2024



Martin Balaščík, Ph.D.