

Posudek na doktorskou disertační práci MUDr. Evy Pospíšilové  
**Mechanismy vzniku patologických bolestivých stavů a úloha vaniloidních TRPV1  
receptorů**

Školitelem dr. Pospíšilové byl MUDr. Jiří Paleček, CSc. z Fyziologického ústavu AV ČR,  
v.v.i. z Oddělení funkční morfologie

Dr. Pospíšilová předložila svoji doktorskou disertační práci na 160 stranách a rozdělila ji podle správného klasického klíče na úvod, hypotézy a cíle studie, metody, výsledky, diskuse, závěr, shrnutí a seznam literatury.

Projdu nyní postupně všechny části disertační práce.

Na začátku uvádí autorka velmi užitečný seznam zkratk. Je třeba podotknout, že NSAID se již nepoužívá, dnes se moderněji používá pouze NSA (nesteroidní antirevmatika a antiflogistika). VPL a VPM není zkratka pro nucleus posterolateralis, ale pro nucleus ventroposterolateralis, stejně tak VPM není nucleus posteromedialis, ale nucleus ventroposteromedialis.

**V úvodu** dr. Pospíšilová uvádí definici bolesti, která je její trošku upravenou verzí. Stálo by za to konfrontovat ji s definicí bolesti tak, jak je uvedena v definici IASP, kterou převzala WHO, a která je uvedena v monografii Bolest, která není nikde citována. Stála by za citaci i přeložená monografie prof. Albe Fessard, tam rovněž by bylo možné použít mnoho srovnání, protože některé názory autorky jsou brány pouze z jednoho úhlu pohledu. Na str. 35 by autorka mohla uvést příklady generik, protože v dalším svém textu generika i firemní názvy preparátů uvádí. V přehledu na str. 34 u agonistů GABA receptorů není zmínka o pregabalinu, zmiňuje se pouze o gabapentinu. Na str. 51 místo reflexní sympatické dystrofie by měl být uveden komplexní regionální bolestivý syndrom typu 1 nebo 2.

Přehled je užitečný a kdyby byl zbaven jazykových nedostatků o kterých se zmíním později, tak bychom jej určitě uvítali jako článek v časopise Československá fyziologie.

**Hypotézy a cíle studie:** autorka ne vždy vyslovuje hypotézu. Podává přehled o tom co je známo a o tom, co by eventuálně mohlo být zkoumáno. Hypotéza by měla být vyslovena přesně. V některých případech to je, ale jinde ne. Hypotéza se musí jasně a expresivně stanovit. Na hypotézy je v textu příliš mnoho kondicionálů.

**Metody** jsou zpracovány velmi pěkně. Bylo by třeba uvést, jak byla zvířata chována v kleci, zda po operaci bylo v kleci pouze jedno zvíře, nebo jich bylo více pohromadě apod.

Je obdivuhodné, že autorka kromě chirurgické metody a měření mechanické a termické bolesti se zabývala také metodou C fos, to je velice dobře. Autorka nepoužívala klasický Plantar test, ale používala podobnou metodu.

**Výsledky** jsou zpracovány velmi dobře, ale je zbytečné, že se v mnoha případech opakují. Autorka má obecný komentář, který je dobrý, ale někdy je opakovaný zcela zbytečně. Tím také narostla práce do rozměrů, které má. Autorka použila velice správně originální obrázky ze svých publikovaných prací a k tomu má určitý komentář, který se mnohdy téměř neliší od textu, který je pod obrázky. Zde mohlo dojít k úspoře textu a sjednocení. Tímto způsobem se ale čtenář lépe seznámí s principy, které chtěla autorka vyjádřit.

**Diskuse** má velmi dobrou úroveň. Shrnuje zásadně všechny výsledky a je s nimi konfrontována.

**Závěr** vykazuje dobré výsledky. K úctyhodnému seznamu literatury mám poznámku. Došlo k chybě v případě přepisu Menetrey (202). Chybí citace některých prací z bolesti Albe Fessard a možná i školitele.

Na konci autorka uvádí své vlastní publikace, ale pouze dvě impaktované, ale měla by tam uvést i svoje další publikace zejména in extenso bez impaktu, pokud je má a alespoň číselně počet abstrakt, abychom měli kompletní doplněk literatury.

Jakožto oponent za komisi se musím věnovat formální stránce práce. Vedle velice kvalitního odborného zázemí je největším nedostatkem práce její jazykové zpracování. Autorka nemá jazykovou fantazii a píše špatnou češtinou. Používá pasiva, to nelze spočítat, kolikrát napíše, že „k něčemu dochází“, že „dochází ke snížení nebo zvýšení“ místo, aby napsala, že se něco snížilo nebo zvýšilo, dále „dojde, pomocí“. Těchto výrazů by se měla vyvarovat. Neúměrně často používá slovo „pak“, „vede“, „řada“. Nepoužívá se „alosterický“, ale „allosterický“, ne „thalamus“, ale „talamus“, „allodynie“, ale „alodynie“. Nepoužívá se „sodné kanály“, ale „sodíkové kanály“ (potažmo draslíkové, vápníkové kanály). Acidóza se může psát jak v české, tak latinské transkripci, což používá autorka. Místo čtyř dnů se píše čtyři dni. Tyto výrazy jsem v práci podtrhal. Vzhledem k další publikační aktivitě autorky a vzhledem k tomu, že bychom projevíli zájem o přehledný článek, by se měly tyto jazykové nedostatky odstranit. Někde jsou to i hrubé chyby, není „lemniskární“, ale „lemniskální“. Nelze používat argotické výrazy jako je „tím pádem“. Zcela nesprávné je používat mnohdy neúměrně zkratku tzv., nic není tzv., pouze když má někdo přezdívku. Určitý jazykový problém je u slova nociceptor a nocisenzor. Autorka používá slovo nociceptor i když dnes i v české literatuře se začíná více používat nocisenzor.

Necitují se zkratky citací v textu např. TL Yaksh, ale cituje se jenom Yaksh (na str. 129).

Čeština není bohužel na výši a je to škoda, protože práce je velice kvalitní.

Výsledky jsou velmi pěkně a impresivní. Autorka se především zabývala velmi podrobně účinkem kapsaicinu a to jak při akutním, tak při chronickém podání. Nejenom jeho účinkem jako takovým, ale ukázala určité možnosti aplikace kapsaicinu. Poukázala také na jeho patofyziologické mechanismy, kapsaicin vyřadí senzitivní nervová vlákna a selektivně zablokuje nociceptivní aferenci z místa incize. Tím lze ovlivnit pooperační tepelnou hyperalgezií a mechanickou alodynii i hyperalgezií. To má velký praktický význam a celý mechanismus kapsaicinu a jemu odpovídajících TPRV receptorů ukázal nejenom na možnosti experimentální, ale zejména je to velmi důležité i pro kliniku. Autorka to dokázala na obou modelech, které použila; model kožní incize na zádech a model plantární incize. Zabývala se celkově aplikovaným kapsaicinem a lokálně aplikovaným kapsaicinem ve vysoké koncentraci a získala zajímavé výsledky, které lze opět použít prakticky. Z toho vyplývá možnost preemptivního přístupu v léčbě bolesti, protože při tkáňovém poranění se rozvíjí centrální senzitivace, protože intenzivní nociceptivní aference z poškozené tkáně a to je důležité, že to pokračuje i po skončení působení nociceptivního podnětu.

Podle autorky by bylo možné preemptivní ovlivňování. Autorka to dokázala omezením exprese C fos v neuronech zadních rohů míšních. Lokálně aplikovaný kapsaicin má jiné účinky, než lokální anestetika, která působí krátkodobě a musí se podávat opakovaně nebo kontinuálně. Vysoká dávka kapsaicinu selektivně účinkuje na kapsaicinové TRPV1 receptory a tím je vyřazuje z funkce, přetrvává několik dnů, a proto by bylo možné tento způsob používat lépe než aplikaci lokálních anestetik.

Velmi si cením výsledků autorky týkajících se sledování STT neuronů, dráhy tractus spinothalamicus ventrolateralis a neuronů postsynaptické dráhy zadních provazců. Autorka ukázala kudy se vedou dráhy po ovlivnění na periférii a jak může být celý systém ovlivněn. Není to jenom lokální problém, ale je to celý systém nejen bolestivé percepce, ale také bolestivé transmise, který je do celé situace zavzat. To autorka ukázala velmi přesvědčivě. To je neobyčejně cenné a bude to určitě z její práce použito.

Velmi podrobně se zabývala možnostmi agonistů receptorů TPRV1 aplikací OLDA, NADA, PALDA a STEARDA a dalších látek. OLDA se jeví jako velmi plausibilní agonista, který by mohl přispět k řešení situace. Autorka studovala i účinek bradykininu, který není jenom periferně zánětlivý mediátor, ale uplatní se i v centrální transmissi nociceptivní informace a působí na TPRV1 receptory tím, že je senzitivuje a zvyšuje jejich citlivost. To je jeden z velmi významných vysvětlení účinku bradykininu. Autorka studovala velmi intenzivně i


TPRV1 antagonistu SB366791, který byl podán intratekálně nebo intradermálně před provedením incize, je to opět preemptivní způsob. Nejvýznamnější je, že intratekální aplikace endogenního antagonisty OLDA nemá vliv na tepelné a mechanické periferní podněty, ale potencoval senzitivizující účinek intratekálně aplikovaného bradykininu. To má praktickou aplikaci. Nejdůležitější je účinek lokálně aplikovaného kapsaicinu ve vysoké koncentraci, který se uplatňuje v pooperační tepelné i mechanické hyperalgezi, stejně tak intratekálně aplikovaný TPRV1 antagonist SB366791 měl výrazný analgetický efekt na průběh pooperační tepelné hyperalgie a mechanické alodynii. Cenné je, že autorka uzavírá, že jsou důležité nejenom periferní, ale také centrální TPRV1 receptory, které hrají rozhodující roli v transmisi nociceptivní informace a v její modulaci. Lze je využít do budoucna k tlumení a předcházení pooperační bolesti.

**Dotazy:**

- 1) Kolik zvířat bylo v kleci, když byla operována? Byla chována v kleci po jednom, nebo jich bylo více?
- 2) Bradykinin a krevní tlak. Bradykinin je silný vazodilatátor, když jste jej podávali, nemělo snížení krevního tlaku vliv na percepci bolesti?
- 3) Na str. 73 bych potřeboval vysvětlit větu „první série pokusů zkoumala změny odpovědí na mechanické podněty aplikované na hladkou kůži planty pedis způsobené chirurgickou incizí u zvířat, kterým byl 24 hodin před zákrokem intradermálně aplikován kapsaicin nebo jen rozpouštěcí roztok“. Ta hladká kůže nebyla způsobena chirurgickou incizí, to by bylo třeba trochu vysvětlit.

**Závěr:** Autorka velice přesvědčivě dokázala, že je schopna vědecké práce, že je schopna si položit úkol i formulovat cíle a hypotézy. Získala zásadní a prioritní výsledky o čemž svědčí i publikace ve významně impaktovaných časopisech (IF 4,5 a 4,4), což svědčí o její vysoké vědecké erudici.

Doporučuji, aby na základě této doktorské disertační práce podle § 47 zákona o Vysokých školách č. 111/1998 Sb. jí byla udělena vědecká hodnost Ph.D. v oboru Fyziologie a patofyziologie člověka v rámci postgraduálního studia Biomedicíny na Univerzitě Karlově.

  
prof. MUDr. Richard Rokyta, DrSc.

P.S. Doporučuji autorce, aby ještě na obhajobu doplnila autoreferát (ne předělávat), podle našich platných předpisů. V přehledu chybí oponenti. Měly by být uvedeny ostatní práce in extenso bez impakt faktoru a počet abstrakt. To stačí doplnit na zvláštním listu.