



## Zápis o konání obhajoby disertační práce v oboru Neurologie

**MUDr. Zuzana Matejčíková**, lékařka Neurologické kliniky LF UP a FNOL, studentka kombinované formy doktorského studijního programu *Neurologie* na LF UP v Olomouci

**Téma disertační práce:** „Zápalové markery v sére a likvore u pacientov s roztrúsenou mozgovomiechovou sklerózou“

Obhajoba se konala v Olomouci dne 24. srpna v 11:00 hodin.

**Komise:**

- předseda: prof. MUDr. Petr Kaňovský, CSc. .... ✓
- místopředseda: prof. MUDr. Ing. Petr Hlušík, Ph.D. .... ✓
- členové: prof. MUDr. Karel Urbánek, CSc. .... ✓
- doc. MUDr. Daniel Šaňák, Ph.D. .... ✓
- prof. MUDr. Ján Praško, Ph.D. .... OMLUVEN ✓
- prof. MUDr. Jaroslav Opavský, CSc. .... ✓
- prof. MUDr. Martin Bareš, Ph.D. .... ✓
- prof. MUDr. Egon Kurča, Ph.D. .... ✓
- doc. MUDr. Peter Valkovič, Ph.D. .... ✓
- prof. MUDr. Ján Benetin, Ph.D. .... ✓
- prof. MUDr. Josef Bednařík, CSc. .... ✓
- Školitel:** prof. MUDr. Jan Mareš, Ph.D. .... ✓
- Oponenti:** doc. MUDr. Pavel Štourač, CSc. .... OMLUVEN
- Neurologická klinika LF MU a FN Brno
- doc. MUDr. Martin Vališ, Ph.D. .... OMLUVEN
- Neurologická klinika LF UK a FN v Hradci Králové
- prof. MUDr. Martin Petřek, CSc. .... ✓
- Ústav patologické fyziologie LF UP

Předsedající přednesl stručnou charakteristiku uchazeče, hodnocení školitele. Poté uchazeč vyložil podstatný obsah své disertace. Oponenti přednesli své posudky. Uchazeč odpověděl na připomínky a dotazy oponentů. Ve vědecké rozpravě vystoupili: viz příloha – zápis o diskusi.

Hlasování se účastnilo .....<sup>10</sup>.....členů komise. Kladně hlasovalo .....<sup>10</sup>.....členů, záporně .....<sup>0</sup>..... členů, neplatných lístků bylo odevzdáno .....<sup>0</sup>.....

**Usnesení:**

Přítomní členové komise tajným hlasováním rozhodli, že **MUDr. Zuzana Matejčíková** obhájila disertační práci a doporučili udělení akademického titulu doktor ve zkratce Ph.D. dle § 47 Zákona o vysokých školách č. 111/98 Sb.

.....  
prof. MUDr. Petr Kaňovský, CSc.  
předseda komise

## Odpovede na otázky oponentov k dizertačnej práci

Prof. MUDr. Martin Petřek, CSc.

**1. Zvažovali jste, spolu se školitelem i vyšetření jiných cytokinů či biomarkerů.**

Áno, podľa dostupných štúdií sme zvažovali i vyšetrenie iných cytokínov (napr. IL-17, IL-23). IL-17 a IL-23 by sme chceli v budúcnosti do výskumu zahrnúť, keďže sa javia byť podľa najnovších štúdií dôležité v imunopatogéneze roztrúsenej sklerózy.

**2. V úvodu v časti o terapii fingolimodem se na str. 30 čtenář dozví, že „Pokial' poklesne absolútny počet lymfocytov pod 0,2 g/l je nutné liečbu ukončiť.“ Kde je v tomto tvrzení chyba?**

Správne by malo byť, že je nutné liečbu prerušiť, keď je absolútny počet lymfocytov  $0,2 \times 10^9/l$ .

**3. V úvodu, v oddíle o genetice roztroušené sklerózy, zmiňujete možnou úlohu epigenetických faktorů v patogenezi studovaného onemocnění. Můžete prosím upřesnit a rozvést.**

Epigenetické mechanizmy zahŕňajú DNA metyláciu, modifikáciu histónov a posttranskripčné umlčanie génov spojené s efektom mikroRNA – tieto mechanizmy môžu hrať úlohu v sprostredkovaní efektu environmentálnych faktorov (fajčenie - metylácia DNA, deficiencia vit. D – aktívna forma vit. D vedie k posttranslačnej modifikácii histónov a zabránenie transkripcii génu pre IL-17)

Demyelinizačné procesy môžu byť ovplyvnené hypometyláciou génu PAD2. Substrátom pre PAD2 je MBP, ktorý je týmto procesom hypercitrulinovaný, čo zväčšuje rozsah demyelinizácie

**4. Existuje podle Vás možnost uplatnění měření Vámi stanovených cytokinů v likvoru při sledování klinického vývoje nemoci, příp. posuzování jej závažnosti (např. ve smyslu charakterizace forem nemoci, popsaného Vámi např. na str. 16).**

V budúcnosti by mohli byť cytokíny využívané k monitorácii efektivity liečby choroby alebo tiež ako prediktívny marker závažnosti choroby. Forma RS sa zistí až behom observácie a pravidelných kontrol pacientov, preto využitie týchto markerov ako prediktívnych faktorov formy RS je menej pravdepodobné.

**5. Mohla byste, prosím, upřesnit, jak zamýšlíte pokračovat při práci na přehledném článku, který tvoří závěr dizertace, např. rozšířením textu, dokumentace formou tabulky, schématu, ilustrace či doplněním citačního aparátu (t.č. 15 citací).**

Článok bol už v tejto podobe prijatý do Neurologie pro praxi, účelom bolo prehľadne spracovať problematiku pre ambulantných neurológov, kde je stanovený rozsah i počet citácií (maximálne 20).

## **Doc. MUDr. Pavel Štourač, Ph.D.**

### **1. Definovať štruktúrne a funkčne hematoencefalickú a hematolikorovú bariéru a jejich roli v transportu látok medzi cirkuláciou a CNS.**

Hematoencefalická bariéra (oddeľuje mozgové tkanivo a krvný obeh)

3 vrstvy:

1 - vrstva endotelových buniek

2 - bazálna membrána

3 - výbežky astrocytov

Funkcie: ochrana CNS, všeobecne umožňuje prestup lipofilných látok (napr. steroidné hormóny) a malých molekúl ( $H_2O$ ,  $O_2$ ,  $CO_2$ , etanol...) a neprenikajú cez ňu látky hydrofilné (pokiaľ nemajú príslušné transportéry ako napr. glukóza (GLUT 1), AMK); bráni prieniku mikroorganizmov a infekciám do CNS, obmedzuje prestup protilátok i ATB

Hematolikorová bariéra (oddeľuje mozgovomiechový mok a krv)-

3 vrstvy:

1 - choroidálne epiteliálne bunky

2 - bazálna membrána

3 - vrstva endotelu kapilár pia mater

Funkcie: obmedzuje vstup látok z krvi priamo do likvoru, permeabilnejšia ako hematoencefalická bariéra; je priepustná pre mnohé proteíny krvnej plazmy (prostredníctvom pinocytózy alebo aktívnym transportom)

### **2. Uviesť vlastné hodnoty Qalb v rámci vekovej normy u pacientů v souboru RS, resp. vyznačit kolik těchto pacientů mělo abnormální hodnoty. Z uvedeného výsledku vyplývá jen výsledek statistického hodnocení.**

45 pacientov malo hodnoty Qalb nad hornú hranicu normy a väčšina zo zostávajúcich pacientov sa blížilo k hornej hranici normy.

### **3. Uviesť krátkou přehlednou biologii IL-8, tj. produkci, koncentrace, mechanismus transportu a přestupu, biologický poločas a možné metodiky jeho stanovení. Uvedené parametry hrají významnou roli při stanovení a interpretaci výsledků a nepochybně stojí v pozadí často nejednotných výsledků různých publikací jak sama autorka v práci zmiňuje.**

- Interleukíny sú všeobecne produkované väčšinou lokálne (IL-8 je produkovaný makrofágmi, lymfocytmi, epiteliálnymi bunkami, endoteliami), závislé na interakcii imunokompetentných buniek a antigénov, z toho dôvodu je výhodné ich stanovovať v izolovanom biologickom kompartmente (napr. CNS + likvor), pretože nemusia prechádzať cez žiadne biomembrány a bariéry (syntetizované priamo v danom biol. kompartmente)
- IL-8 pôsobí cez receptory CXCR1 a CXCR2 (s G proteínom sprážené receptory fungujúce na princípe signálnej transdukcie)
- funkcie: chemotaxia neutrofilov do miesta zápalu, antivírusové účinky a zvýšenie fagocytózy
- všeobecne majú interleukíny krátky biologický polčas (rádovo minúty), s tým súvisí aj prudký nástup ich syntézy (90-180 min)
- princíp detekcie:  
Imunoanalytická metóda s chemiluminiscenciou - citlivá analytická metóda, u ktorej sa k analýze vyšetrovaných látok využívajú reakcie antigénu (v našom prípade teda IL-8) so špecifickou protilátkou. Analýza sa vykonáva vo vyšetrovaných telesných tekutinách iba vo veľmi malých koncentráciách (pg/ml). Ako chemiluminiscenčné markery sa používajú buď luminofory (luminoly, akridínium ester) alebo chemiluminiscenčné reakcie katalyzované enzýmami (napr. peroxidázou).
- Referenčné medze IL-8 (CSF, sérum): 0-62pg/ml

## **Odpovede na otázky k dizertačnej práci v rámci diskusie pri obhajobe**

**Prof. MUDr. Ján Bentin, PhD.**

***Súhlasíte s tým, že roztrúsená skleróza je fenotypovo a patogeneticky rôznorodé ochorenie, a preto môžu byť interindividuálne rozdiely v rámci vyšetrovaných biomarkerov?***

Áno, s týmto tvrdením plne súhlasím.

**Prof. MUDr. Josef Bednařík, CSc.**

***Jsou rozdílné výsledky v pilotní a rozšířené studii?***

Nie, výsledky rozšírenej štúdie potvrdili výsledky pilotnej, tj. zvýšené hladiny IL-8 a beta-2-mikroglobulínu v likvore u pacientov s roztrúsenou sklerózou v porovnaní s kontrolnou skupinou. A navyše boli v rozšírenej štúdii zistené nižšie hladiny IL-8 v sére.

***Zvažovala jste korelaci markerov zánětu s MR?***

Nezvažovali, pretože by výsledky neboli dostatočne validné. MR bola v niektorých prípadoch prevedená skôr ako lumbálna punkcia a MR boli zhotovené na rôznych pracoviskách.

**Prof. MUDr. Jaroslav Opavský, CSc.**

***Zvažovala jste korelaci zánětlivých markerov s EDSS?***

Áno, spolu so školiteľom sme zvažovali túto koreláciu a bude predmetom ďalšieho výskumu. Chceli by sme týmto dokázať alebo vylúčiť, či nami sledované biomarkery môžu byť v budúcnosti prediktívnym markerom miery invalidity pacientov.