

Oponentský posudok na habilitačnú prácu

Téma práce: Development of cell types in the spinal cord.

Autor: RNDr. Juraj Ševc, PhD.

Ochorenia nervového systému, v súvislosti s habilitačnou prácou predovšetkým miechy, sú často sprevádzané motorickým deficitom, čo vedie následne k ovplyvneniu kvality života pacientov. Napriek významnému pokroku v oblasti neurovied v poslednom období, pri ochoreniach miechy, predovšetkým úrazoch, ktoré sú dôsledkom rozvoja automobilizmu a športu, sú naše možnosti liečby stále veľmi limitované. Preto všetky práce ktoré sa venujú problematike štúdia ochorení miechy a možnostiam obnovy funkcie miechy sú významné z hľadiska rozvoja vedy v tejto oblasti.

Kým neurogenéza je proces ktorý je dobre preštudovaný, menej sa vie o vývoji gliálnych buniek ako sú oligodendrocyty, astrocyty alebo ependymálne bunky ako aj o problematike progenitorov formujúcich miechu, ktoré majú význam pre udržiavanie správneho neuronálneho prostredia keď dôjde k narušeniu jeho homeostázy či už v dôsledku vonkajších alebo vnútorných príčin. V procese dešifrovania gliových zložiek miechy zohráva rozhodujúcu úlohu pochopenie ich vývoja.

Práca pozostáva z dvoch častí. V prvej časti autor podáva všeobecný prehľad o vývoji miechy, neurogenéze a o vývoji gliálnych buniek ako sú oligodendrocyty, astrocyty alebo ependymálne bunky, je napísaná na 56 stranách, je v nej citovaných približne 160 prác (nie sú číslované), doplnená 5 obrázkami a tromi tabuľkami.

Druhú časť tvorí 11 prác v ktorých je uchádzač 5 x prvým autorom, 5 x spoluautorom a raz posledným autorom.

V prvej práci sa autor venuje problematike transformácie primitívneho lúmenu miechy do centrálného kanála a v práci poukazuje na skutočnosť, že je to priamo spojené s procesmi gliogenézy, a samotná transformácia primitívneho lúmenu do centrálného kanála bola pravdepodobne v dôsledku transformácie a migrácie radiálnych gliových buniek.

V prácach 3-5 sa autor venoval značeniu DNA v replikujúcich sa bunkách pomocou 5-bróm-2'-deoxyuridínu (BrdU), ktorý je na tento účel široko používaný, avšak rýchle vylučovanie a metabolizácia BrdU v živom organizme je kritickým problémom tejto metodiky. Aj keď je farmakokinetika BrdU experimentálnych zvierat empiricky aproximovaná, presná časová krivka zostáva neznáma. Autor uvádza novú metódu odhadu obsahu BrdU v krvnom sére. Aplikácia je založená na in vitro kokultivácii nádorových buniek so skúmaným sérom a následnou kvantifikáciou zabudovaného BrdU v DNA pomocou analýzy prietokovou cytometriou. Túto metódu považuje za

alternatívu ku konvenčnej chromatografickej analýze. Autor potvrdil, že uplatnenie nádorových buniek ako „detektorov“ obsahu BrdU v sére predstavuje výhodu oproti ich stanovovaniu vysokotlakovou kvapalinovou chromatografiou (HPLC), pretože nám umožňuje nielen určiť koncentráciu BrdU, ale aj určiť, či je BrdU prítomný v krvnom sére v účinnej koncentrácii na spoľahlivé označenie všetkých buniek podstupujúcich S-fázu bunkového cyklu. Nová metodika môže byť užitočný nástroj na štúdium farmakokinetiky BrdU alebo iných analógov tymidínu pri testovaní rôznych spôsobov podávania alebo rôznych protokolov. Autor súčasne študoval aj vplyv rôznych spôsobov podania BrDU na označenie všetkých buniek podstupujúcich S-fázu bunkového cyklu. Po injekčnom podaní u myši pozoroval označenie len v priebehu 15 minút s následným rýchlym poklesom.

V prácach 5 až 7 aj za pomoci značenia BrDU potvrdil schopnosť produkovať oligodendrocyty vo vnútornej výstelke ependýmu ako aj mimo ependymálnych buniek aj v postnatálnom období, čo potvrdzuje oveľa väčšiu plasticitu v tejto oblasti ako sa predpokladalo.

V prácach 8-9 sa venoval sledovaniu cerebrospinálny mok kontaktujúcich neurónov (CSF-cNS) a zistil, že ich produkcia prebieha aj po ukončení neurogenézy a identifikácii polymorfizmov génov zodpovedných za ich ektopickú pozíciu v kmeni myši C57B1/6N, zodpovedné sú pravdepodobne polymorfné lokusy myši *Crb1* a *Cyfp2*.

Práca 10 sa venuje problematike imunosupresie, ktorá je nevyhnutná pri experimentálnej alogénnej a xenogénnej bunkovej a orgánovej transplantácii a zistil, že pelety takrolimu predstavujú efektívnu a dlhotrvajúcu imunosupresiu na prežitie nervového prekuzora transplantovaného do poškodeného tkaniva miechy potkana.

V poslednej práci sa venoval identifikácii vhodných referenčných génov pre štúdium génovej expresie v mieche potkana počas postnatálneho vývoja a po poškodení miechy.

Svojou habilitačnou prácou RNDr. Ševc preukázal schopnosť systematickej vedeckej práce, pri ktorej postupoval od štúdia neurogenézy miechy potkana, cez zdokonalenie vyšetrovacích metód až po sledovanie prežívania nervových prekuzorov v poškodenom tkanive miechy pri vhodne zvolenej imunosupresii.

Cieľom práce bolo zistiť možný potenciál pre obnovu tkaniva a funkcie poškodenej miechy, ktorý svojou prácou naplnil a potvrdil endogénny regeneračný potenciál nervového tkaniva miechy potkana počas postnatálneho vývinu a po poškodení, potvrdil oveľa väčšiu plasticitu v tejto oblasti ako sa predpokladalo a potvrdil aj prežitie nervového prekuzora transplantovaného do poškodeného tkaniva miechy potkana pri vhodne zvolenej dlhodobej imunosupresii. Tieto výsledky predstavujú nádej na posun v liečbe poškodení miechy, ale využitie v každodennej klinickej praxi si bude vyžadovať ešte ďalšiu náročnú prácu.

Na autora mám preto 1 otázku:

Ako vidí budúcnosť regeneračnej liečby poškodení miechy v klinickej praxi.

Záverom môžem konštatovať, že habilitačná práca a jej výstupy potvrdzujú, že RNDr. Juraj Ševc, PhD je skúsený vedecký pracovník, schopný jasne formulovať ciele a následne ich v praxi realizovať, odporúčam prijať prácu ako podklad k habilitačnému konaniu.

Košice, 23.3.2021

Prof. MUDr. Zuzana Gdovinová, CSc, FESO, FEAN