



Oponentský posudek disertační práce „NG2-glia proliferace a diferenciaci po poškození CNS“

Autorka disertační práce: Mgr. Denisa Kirdajová

Oponent: Mgr. Ondřej Novák, PhD

Vážené členky a členové komise pro obhajoby doktorského studijního programu *Neurovědy*,

Dovoluji si Vám předložit oponentský posudek, který jsem vypracoval po pečlivém pročtení práce paní magistry Kirdajové (dále jako „studentka“).

Studentka předkládá práci, kde se zabývá vlastnostmi NG2⁺ glií za fyziologických a patofyziologických podmínek. Aktuálnost a potřeba studia této oblasti je mimořádná. Je již všeobecně přijímáno, že úloha gliových buněk v mozku je velmi komplexní a představa jejich pouhé podpůrné funkce je značně obsoletní. Postupně se ale ukazuje jejich značná kauzální role v procesech jako je zánět a jiná parakrinní působení, velmi komplexní regulace dějů na základě složité struktury transkripce a signálních drah a tak dále. Studium těchto principů na příslušné úrovni – buňky, typy prepisovaných genů – je mimořádně důležité zejména proto, že každý z nalezených principů se může stát terapeutickým cílem.

Mimo dobře známou úlohu NG2⁺ glií v diferenciaci v oligodendrocyty myelinizující axony v CNS studentka zmiňuje již dříve ukázaný fakt, že NG2⁺ glie si zachovávají značný proliferativní potenciál a mohou diferencovat také v astrocyty. Pomocí pokročilých matematických metod je analyzován transkriptom selektovaných buněk z fyziologického mozku, případně z mozku poškozeného fokální cerebrální ischemií, bodovým poraněním, nebo indukovanou demyelinizací. Jednotlivé transkripční profily jsou studovány v bezprecedentním detailu. Obecně platí, že po inzultu se populace NG2⁺ glií „pre-diferencuje“ v několik statisticky oddělitelných podskupin, kde u každé lze úspěšně uvažovat o jejich kladné/záporné funkci v průběhu patologie. Tyto skupiny NG2⁺ glií stále nesou hlavní znaky pro NG2⁺ glie – Cspg4 nebo Pdgfra – ty jsou ale již kombinovány s nárůstem transkripce genů determinujících výsledné buňky. Práce předkládá také velice originální výsledky vlivu věku na výše uvedené typy diferenciací a potenciálních funkci indukovaných genů.

Představené výsledky jsou originální a zcela nové. Zde si ale dovoluji jednu výtku, mezi některými výsledky jsou logické diskrepance. Ty by měly obecně být pečlivěji identifikovány, více vysvětleny a diskutovány. Bohužel takové situace se v práci objevují vícekrát. Typickým příkladem je zcela odlišný výsledek pro frakci NG2⁺ glií exprimujících proliferativní markery PCNA a KI-67. Toto je ve výsledcích jen zmíněno a následně v sekci diskuse je popsáno, že PCNA zahrnuje i reparační stavy a je tak méně specifické. Není již třeba vysvětleno, proč téměř žádná NG2⁺ glie dle KI-67 značení neproliferuje před inzultem, přičemž by to NG2⁺ glie měly dělat průběžně, jak je uvedeno i v teoretickém úvodu práce.

Obecně je metodický přístup k danému tématu velmi bohatý a do značné míry vyčerpávající. Již samotný chirurgický protokol a indukce příslušných inzultů není vůbec jednoduchá. Detailní statistická zpracování transkriptomů jsou mnohdy doplněna vhodně zvolenými analýzami kolokalizace fluorescenčních markerů specifických buněčných typů ať už pomocí nativní exprese, nebo imunohistologie. Zde musím uvést výtku, že obrázky kolokalizací jsou často ne-typické, často na první pohled nesedí s celkovými grafy.

Formální stránka dizertační práce je z větší míry v pořádku. Práce má vhodný rozsah, je logicky členěna, text je hustě ozdrojován. Jako čtenář jsem se ale nemohl zbavit dojmu, že byla práce psána často velmi rychle a bez opakované kontroly a přísné supervize. Jsou tu pasáže, kde chybí cit pro jazyk například str. 14 „Under physiological conditions, neuronal cells heavily depend on glia. However, during ischemia, they fail to carry out these functions...“. Kdo tedy selhává? Str. 19 „The synaptic inputs from neurons regulate proliferation and differentiation of NG2⁺ glia and vice versa“. To vice versa implikuje, že NG2⁺ glie vytváří synapse na neurony a regulují jejich proliferaci a diferenciaci? Může se to zdát jako nuance, ale takovéto věci by podle mého názoru již v práci úrovně dizertační být neměly, když je text čten opakovaně.

Některé věty zavádají pochybnost o pravdivosti obsaženého tvrzení, jelikož citované články nic takového netvrdí a zdůvodnění v samotné větě není implikací. Str. 16 „Not all oligodendrocytes are derived from NG2⁺ glia, because their mutual distribution is not parallel“.

Seznam zkratk je značně nekompletní. Většinu ze zkratk genů, u nichž byla analyzována míra transkripce, jsem tam nebyl schopen dohledat. Někdy byly vysvětleny v textu, občas pod obrázkem. V přístupu ke zkratkám byla značná nestejnost a několikrát musel pomoci Google.

Přes všechny drobné výtky uvedené výše považuji předloženou práci za velmi dobrou. V práci prezentované výsledky jako velmi významné, daný obor významně posouvající kupředu. Jejich aplikovatelnost spočívá v tom, že každý z identifikovaných procesů a jeho mechanistický podklad na úrovni transkripce nebo transkripce působků je potenciálním terapeutickým cílem v léčbě onemocnění CNS a to v širším kontextu než v práci použitých modelových onemocněních.

Otázky pro diskusi

- Komunikují NG2⁺ glie spolu? Například zda jsou spojeny pomocí gap junctions a mohou se účastnit nějakého typu prostorové iontové homeostáze?
- Jakým způsobem ovlivňuje hypotetická změna membránového potenciálu NG2⁺ glií jejich transkripci nebo schopnost diferenciaci/proliferace?

Závěrečné doporučení:

Dizertační práci předloženou Mgr. Denisou Kirdajovou doporučuji k obhajobě. Na základě předložené práce a množství autorské literatury doporučuji udělit Mgr. Kirdajové titul PhD.

S pozdravem

Mgr. Ondřej Novák, PhD

V Praze dne 16. června 2022