

Praha, 14.6.2013

Oponentský posudek na dizertační práci **Mariána Hrušky-Plocháně, M.Sc.** na téma ***Huntington's disease modelling and stem cell therapy in spinal cord disorders and injury.***

Dizertační práce má celkem 274 stránek.

Z toho se prvních 52 stránek zabývá obecnou problematikou, tj. přehledem poznatků o Huntingtonově nemoci, amyotrofické laterální skleróze a spinálních traumatech; od klinických aspektů přes etiopatogenetické mechanismy až po mikropatologicko-anatomické a histochemické detaily.

Dalších 168 stránek je věnováno získaným výsledkům jednotlivých výzkumných studií a představením jednotlivých publikací v tématu PGS in extenso.

Posledních 54 stránek je věnováno diskusi, citacím, seznamu všech autorových publikací a životopisu.

#### **Formální úroveň:**

Čtenáři může méně vyhovovat po stránce přehlednosti textu členění výsledků a diskuse. Společná definice metodik, výsledků atd., která neodděluje, ale spojuje jednotlivé studie, je obtížná k pochopení, která část textu patří k té které studii. Vhodnější by bylo členit text podle tématu, tj. Huntingtonova nemoc-model miniaturního prasete, Huntingtonova nemoc-UCHL1, poté nervové kmenové buňky u amyotrofické laterální sklerózy a nakonec nervové kmenové buňky u spinálního traumatu.

**Stylistická úroveň:** písemný projev je vysoce odborný, přitom však srozumitelný. Angličtina textu je perfektní po formulační i gramatické stránce.

#### **Věcná úroveň:**

##### **Hlavní dosažené výsledky u výzkumu modelů Huntingtonovy nemoci:**

1. Vytvoření nového transgenního zvířecího modelu Huntingtonovy nemoci, miniaturního prasete.
2. Průkaz spolehlivosti přenosu mutovaného htt v generacích a průkaz jeho exprese v tkáních.
3. Zachycení prvního potenciálního markeru nemoci; snížené plodnosti kanců v důsledku snížení počtu spermií a snížení jejich schopnosti penetrace oocytů.
4. Vytvoření myšího modelu (zkřížení R6/2 modelu Huntingtonovy nemoci s myším modelem postrádajícím UCHL1, proteinu hrajícího významnou roli v deubikvitinaci.),

modelu schopného objasnit roli UCHL1 jako jednoho z aspektů rozvoje nemoci - zvýšené akumulace agregátů obsahujících polyQ v neuronech.

### **Hlavní dosažené výsledky u výzkumu modelů amyotrofické laterální sklerózy a spinálního traumatu:**

1. Průkaz diferenciaci a synaptogeneze transplantovaných nervových kmenových buněk do míchy transgenního potkaního modelu s mutací v SOD1 a spinálního traumatu.
2. Snížení některých parametrů funkčního postižení u tohoto modelu po transplantaci nervových kmenových buněk.
3. Transplantace kmenových buněk však neměla efekt na délku přežití u SOD1+ modelu.

**Téma disertační práce** je velmi významné, především vytvoření modelu vyššího savce, transgenního pro Huntingtonovu nemoc bude mít v budoucích letech obrovský význam pro celosvětovou vědeckou obec zabývající se preklinickým výzkumem této nemoci. Potenciál však tento výzkum skýtá i pro klinickou problematiku, např. pro zkoušení nových léků.

**Disertační práce jednoznačně splnila předsevzaté cíle, přináší významné výsledky a to podstatné i v mezinárodním kontextu. Předložené práce splňují veškeré formální, metodické i věcné atributy kladené na samostatnou výzkumnou práci.**

### **Závěr:**

**Disertační práce plně splňuje veškerá kritéria kladená na získání titulu PhD a doporučuji jednoznačně tento titul udělit.**

### **Dotazy a připomínky:**

1. Interpretace nižší plodnosti u transgenních kanců není jen v poškození funkce UPS. Možná ještě pravděpodobnější vysvětlení by mohlo být ve snížení mitochondriálních funkcí přímým vlivem mutovaného htt. Jsou po tuto hypotézu nějaké důkazy?
2. Může se transgen v intergeneračním přenosu ztratit, např. mechanismem crossing overu či jiným mechanismem? Lze se těmito mechanismům nějak ubránit?
3. Nejnadějnějším kandidátem pro nervové kmenové buňky ve výzkumech autora jsou podle mého názoru spinální traumata. U neurodegenerativních onemocnění sice počáteční změny probíhají v selektivních neuronálních subpopulacích (nahraditelných právě diferenciací kmenové buňky do určitého neuronálního typu, např. u Huntingtonovy nemoci do medium size spiny neurons, V rozvoji těchto chorob dochází však postupně k postižení mnoha odlišných neuronálních populací a poté

globálních mozkových změn. Takto různorodou a přitom funkční diferenciaci, navíc při změnách v čase a v prostoru si je obtížné představit.

Prof.. MUDr. Jan Roth, CSc.

Neurologická klinika a Centrum klinických neurověd

1.lékařská fakulta Univerzity Karlovy

Kateřinská 30

120 00 Praha 2

Tel. 2 2496 5539

e-mail: [jan1roth2@gmail.com](mailto:jan1roth2@gmail.com)