

OPONENTSKÝ POSUDOK

habilitačnej práce **RNDr. Moniky Ďurfinovej, PhD.**, odbornej asistentky na Ústave lekárskej chémie, biochémie a klinickej biochémie LF Univerzity Komenského v Bratislave v študijnom odbore Lekárska, klinická a farmaceutická biochémia na tému

„Vybrané biomarkery u pacientov so sklerózou multiplex“

Predložená habilitačná práca na získanie vedecko-pedagogického titulu docent v študijnom odbore Lekárska, klinická a farmaceutická biochémia s názvom „**Vybrané biomarkery u pacientov so sklerózou multiplex**“ predstavuje súbor publikovaných vedeckých prác doplnený komentárom. Samotný komentár je v rozsahu 67 strán s 10 obrázkami a 1 tabuľkou. Súbor publikovaných prác, ktoré sú uvedené ako prílohy habilitačnej práce, tvorí 9 publikácií, z ktorých v 6 je habilitantka prvou autorkou. Z uvedených 9 prác je 5 karentovaných s priemerným IF = 1.9. V 4 z týchto karentovaných prác je habilitantka uvedená ako prvá autorka. Práca je štandardne členená, okrem úvodu, zhrnutia výsledkov a záveru obsahuje 5 samostatných kapitol, ktoré tvoria jadro celej práce. Predložená habilitačná práca, ktorá pozostáva celkovo zo 127 strán (komentár + prílohy) je napísaná na dobrej úrovni, autorka preukázala znalosť problematiky, čo podložila citovaním 132 prác iných autorov, z ktorých takmer 40% (konkrétne 38) predstavujú práce z posledných piatich rokov.

V prvej časti autorka definuje sklerózu multiplex (SM) ako chronické, autoimunitné, zápalové ochorenie CNS charakterizované demyelinizáciou a stratou axónov vedúcou k neurodegenerácii. Uvádza jednotlivé klinické podtypy SM a predstavuje diagnostiku SM, kde konštatuje, že „*neexistuje jednotný klinický prejav, alebo biochemický marker k diagnostike SM*“. V nasledujúcej časti sa venuje imunopatogenéze SM, v ktorej zohráva dôležitú úlohu nerovnováha medzi cytokínmi produkovanými jednotlivými T-bunkami imunitného systému a detailnejšie sa venuje modelom imunopatogenézy SM, úlohe buniek prezentujúcich antigén a MMPx v celom procese. V ďalšej časti sa venuje oxidačnému stresu, definuje vplyv ROS, RNS a antioxidačných systémov v patogenéze SM, uvádza niekoľko zavedených biomarkerov používaných na hodnotenie patologických zmien a poškodenia mozgu. Nasledujúca časť sa venuje vaskulárnym rizikovým faktorom u pacientov so SM. Uvádzajú sa tu niektoré cievne rizikové faktory, ako napr. hyperhomocysteinémia, dyslipidémia, obezita a hypovitaminóza D₃. Pri hodnotení hladiny homocysteínu u pacientov

so SM autorka konštatuje, že nie sú jednoznačne popísané. Uvádza, že existujú práce, ktoré deklarujú zvýšené hladiny homocysteínu u pacientov so SM oproti zdravým kontrolám, pričom cituje iba jednu prácu z r. 2008. Naproti tomu píše, že sú práce – kde cituje dve, jednu opäť z r. 2008 a jednu svoju z r. 2018 – v ktorých neboli zistené signifikantné rozdiely medzi pacientami SM a kontrolnou skupinou. Internetový vyhľadávač Web of Science pritom pre kľúčové slová „homocysteine“ a „multiple sclerosis“ ponúka 145 prác, medzi inými aj práce z rokov 2019 a 2020, vychádzajúce z rôznych meta-analýz a detailne popisujúcich zmeny hladiny homocysteínu u pacientov so SM. V prípadnej diskusii by habilitantka mohla zaujať stanovisko k najnovším zisteniam. V podkapitole venujúcej sa dyslipidémii autorka píše, že *„neexistuje zatiaľ žiaden presvedčivý dôkaz, že akýkoľvek sterol je do mozgu absorbovaný z lipoproteínov cirkulujúcich v plazme“* s odkazom na prácu z r. 2003. Z literatúry sú pritom známe práce z posledných 10 rokov, venujúce sa fytosterolom, ktoré sú prítomné v HDL a schopné cez SR-B1 receptor prechádzať hematoencefalickou bariérou, ako to píše napr. skupina okolo prof. Tima Vanmierla z Hasselt University (Belgicko). V poslednej časti pred sumarizáciou výsledkov svojich prác autorka uvádza kognitívne postihnutia pacientov so SM. Postupne spomína zmeny hladín neurotransmiterov pri SM, dysfunkciu autonómneho nervového systému u SM, purínerný systém a jeho neuprotékčny vplyv. Z neurotransmiterov sa autorka sústreďuje na glutamát, glutamín, GABA a glycín. Na str. 34 detailnejšie popisuje glutamát-glutamínový cyklus, najmä odstraňovanie glutamátu zo synaptickej štrbiny. V tomto kontexte uvádza úlohu transportérov GLT-1 a EAAC1. Uvedené transportéry (spolu s transportérom GLAST) sú v tejto práci označované starším, dnes už skôr nepoužívaným označením. Encyclopedia of Neurotransmitters, ako aj práce z posledného obdobia (viď napr. Divito and Underhill, 2014), hovoria o tom, že transportéry GLAST, GLT-1 a EAAC1 boli premenované na EAAT1-3. Zároveň, celý glutamát-glutamínový cyklus nie je uvedený celkom presne. Autorka píše, že glutamát je – okrem iného – zo synaptickej štrbiny odstraňovaný EAAC1 transportérom do *„presynaptického zakončenia GABAergných neurónov“*. Ak presynaptických, tak skôr asi do glutamátových neurónov. To by – nepriamo – podporovala aj skutočnosť, že EAAC1 transportéry boli nájdené v postsynaptických membránach neurónov.

V zhrnutí výsledkov autorka sumarizuje výsledky svojho štúdia a postupne – okrem iného - uvádza, že:

- zistili signifikantné rozdiely v hladine MDA v CSL pacientov so SM oproti kontrolnej skupine,

- zaznamenali signifikantné rozdiely v hladinách aspartátu a glycínu u pacientov so SM oproti kontrolnej skupine,

- u pacientov so SM tiež pozorovali zvýšenie aktivity fosfodiesterázy,

- u pacientov so SM nezaznamenali rozdiely v koncentráciách homocysteínu, nepozorovali ich ani medzi jednotlivými formami SM, ani medzi pohlaviami, na druhej strane však ukázali zníženie hladín glutatiónu a metionínu,

- po korekcii na vek a pohlavie dokázali signifikantne vyššie hladiny TAG, ako aj vyššie hladiny LDL cholesterolu a nižšie hladiny HDL cholesterolu u niektorých foriem SM,

- nezistili zmeny aktivity paraoxonázy, ani vitamínu D u pacientov so SM.

V samotnom závere autorka uvádza výsledky ešte raz spolu s krátkou diskusiou.

Jednotlivé kapitoly predloženej práce na seba logicky nadväzujú a spolu vytvárajú kompaktný celok, ktorý poskytuje relevantné základné informácie o študovanej problematike. Autorka sa však nevyhla niekoľkým gramatickým chybám (či už to chýbajúce čiarky, zlé skloňovanie apod.) a preklepom, ktoré však neznižujú celkovú odbornú úroveň práce. Niektoré časti práce, ako napr. charakterizáciu ochorenia a vplyv jednotlivých faktorov v patogenéze autorka miestami až doslovne opakuje (viď str. 13, 19 a 26). Autorka tiež nepoužíva jednotnú terminológiu, ako napr. „mozgovomiešny mok“ vs. „cerebrospinálny likvor“, či „cytoplazma“ vs. „cytosol“, príp. používa čechizmy (napr. „zahájit“, str. 20). Slovné spojenia „extracelulárna matrica“ (str. 20), „dvojné väzby“ (str. 23) a „neuroprotektívny vplyv“ (str. 41) by som navrhol zameniť za „extracelulárny matrix“, „dvojité väzby“ a „neuroprotektívny vplyv“. Na str. 36 je uvedený neúplný názov P- proteínu glycín-štiepiaceho enzýmu, ktorý v prípade, že má EC číslo, ako je uvedené v práci (t.j. EC 1.4.4.2) by mal byť *glycíndehydrogenáza dekarboxylujúca*. V Zozname skratiek by som pre katalázu navrhol označenie „CAT“ (t.j. veľkými písmenami, podobne ako pre ostatné enzýmy), nakoľko „cat“ je skôr označím pre katal. Otázne tiež je, či v zozname skratiek je vôbec nutné uvádzať tak známe skratky, ako napr. ATP, UDP, UTP, DNA a pod. Nie celkom rozumiem, prečo sa nadpisy kapitol a text odlišujú použitým fontom. Autorka by mohla byť tiež odvážnejšia v používaní rozličných foriem zalamovania textu oproti obrázkom.

Nakoľko jednotlivé publikácie a výsledky v nich uvedené prešli recenzným procesom, nepovažujem za nutné k nim detailne diskutovať. Okrem vyššie spomenutých miernych výčítiek (homocysteín, steroly, glutamát-glutamínový cyklus), mám k predloženej habilitačnej práci nasledovné otázky:

1. V Úvode celej práce píšete, že Vaša habilitačná práca je „*aplikačným výstupom využitia stanovenia parametrov oxidačného stresu a antioxidačnej ochrany na*

posúdenie zmien, ktoré vznikajú v CNS pri neurologických ochoreniach“. Podobne v Závere, že *„niektoré parametre oxidačného stresu by mohli byť využité ako prognostický marker progresie SM*“. Ktoré parametre, resp. ich kombináciu, považujete v tomto smere za najviac nádejnú?

2. Sú Vám známe najnovšie trendy vo farmakoterapii SM?
3. Ak by ste si mohli trochu popustiť „uzdu fantázie“, ako vidíte využitie moderných technológií, nanotechnológie, alebo napr. umelej inteligencie v diagnostike, ale najmä v prípadnej terapii SM?

Záverom môžem konštatovať, že autorka posudzovaným habilitačným spisom dokumentuje svoju vedecko-výskumnú erudíciu, schopnosť dobrej voľby aktuálnych problémov pre ich riešenie a rozvoj daného vedného odboru. Predložená habilitačná práca spĺňa podmienky kladené na tento druh vedeckých prác, a preto **odporúčam** príslušnej habilitačnej komisii ju prijať ako podkladový materiál pre habilitačné konanie a po jej úspešnom obhájení udeliť RNDr. Monike Ďurfinovej, PhD., v zmysle Vyhlášky MŠVVaŠ SR č. 246/2019 Z.z. o postupe získavania vedecko-pedagogických titulov alebo umelecko-pedagogických titulov docent a profesor vedecko-pedagogickú hodnosť **docent** v študijnom odbore Lekárska, klinická a farmaceutická biochémia.

V Košiciach 09.09.2020


doc. RNDr. Marek Stupák, PhD.