



## **UVP MEDIPARK - CESTA K INOVÁCIÁM VO VÝSKUME, DIAGNOSTIKE A LIEČBE**

Zborník prednášok z tematických konferencií usporiadaných UVP MediPark

**UVP MEDIPARK - CESTA K INOVÁCIÁM VO VÝSKUME,  
DIAGNOSTIKE A LIEČBE - Košice, 29. mája 2018**

**UVP MEDIPARK– PRÍTOMNOSŤ A VÍZIE PRE VÝSKUM  
A TRANSFER – Košice, 25. júna 2018**





## UVP MEDIPARK - CESTA K INOVÁCIÁM VO VÝSKUME, DIAGNOSTIKE A LIEČBE

Zborník prednášok z tematických konferencií usporiadaných UVP MediPark

Zostavovatelia zborníka: prof. MUDr. Pavol Jarčuška, PhD., UPJŠ v Košiciach

prof. MUDr. Daniel Pella, PhD., UPJŠ v Košiciach

MVDr. Ján Rosocha, CSc., UPJŠ v Košiciach

Recenzenti: RNDr. Andrej Miroššay, PhD., UPJŠ v Košiciach

MUDr. Martin Novotný, PhD., UPJŠ v Košiciach

**Pod'akovanie: Tento zborník prednášok bol podporený projektom Medicínsky univerzitný vedecký park v Košiciach (MediPark, Košice – Fáza II.), kód ITMS2014+: 313011D103**

© 2018 Univerzita Pavla Jozefa Šafárika v Košiciach

Všetky práva vyhradené. Toto dielo ani žiadnu jeho časť nemožno reprodukovat', ukladať do informačných systémov alebo inak rozširovať bez súhlasu majiteľov práv.

Za odbornú a jazykovú stránku publikácie zodpovedajú autori. Rukopis neprešiel redakčnou ani jazykovou úpravou.

ISBN: 978-80-8152-617-6



## Obsah

### **Kardiometabolické riziko – patrí k tradičným rizikovým faktorom aj zápalový proces?**

Daniel Pella, Ján Fedačko, Lucia Tomková, Štefan Tóth, Martin Janičko, Peter Jarčuška (UPJŠ)

### **Úloha adultných MSC v regeneračnej medicíne**

Timea Špaková, Ján Rosocha (UPJŠ)

### **Farmakogenetika: možnosti využitia v individualizácii protinádorovej terapie**

Ján Mojžiš, Ladislav Mirossay, Ján Šalagovič, Andrej Miroššay, Peter Fedoročko, Martina Čižmáriková (UPJŠ)

### **Nové možnosti a budúcnosť diagnostiky a liečby neurodegeneratívnych ochorení**

Martin Škorvánek, Zuzana Gdovinová (UPJŠ)

### **Medipark - strategický integrovaný biomedicínsky výskum**

Ján Rosocha, Pavol Jarčuška, Linda Babušik Adamčíková (UPJŠ)

### **Medipark ako koncept „one health“ – prepojenie humánnej a veterinárnej medicíny**

Juraj Pistl, Štefan Vilček ( UVLaf)

### **Neurovedný výskum v Mediparku – súčasnosť a perspektívy**

Nadežda Lukáčová, Ján Gálik (BMC SAV)

### **Medipark a ECRIN - štartuje SLOVACRIN !**

Daniel Pella, Ján Rosocha, Jozef Gonsorčík, Peter Jarčuška, Pavol Jarčuška, Pavol, Beáta Čečetková, Ján Fedačko, Martin, Janičko, Štefan Tóth (UPJŠ, TWMA)

### **Transfer technológií v TIP a na UPJŠ**

Renáta Bačárová (UPJŠ)



## **Kardiometabolické riziko – patrí k tradičným rizikovým faktorom aj zápalový proces ? (Ateroskleróza a onkologické ochorenia – spoločná pôda ?)**

*Daniel Pella, Ján Fedačko, Lucia Tomková, Štefan Tóth, Martin Janičko, Peter Jarčuška*

*Univerzita Pavla Jozefa Šafárika v Košiciach Lekárska fakulta*

**Kľúčové slová:** ateroskleróza, kardiometabolické riziko, zápal, lipidy, klinické štúdie

Ateroskleróza vo všetkých svojich formách a lokalizáciách stále predstavuje najčastejšiu príčinu úmrtnosti nielen na Slovensku, ale aj v Európe. Je chorobou, ktorá prebieha v dvoch fázach – latentnej – iniciácia a tvorba aterosklerotického plátu, ktorý ešte nespôsobuje žiadne klinické prejavy – ateroskleróza v užšom slova zmysle. Druhá fáza je zvyčajne klinicky manifestná a znamená pridruženie procesu trombózy ku rozvoju aterosklerotického plátu. K tomu dochádza zväčša na podklade viacerých patogenetických faktorov, najčastejšie pri fisurácii, alebo ruptúre aterosklerotického plátu, alebo pri hyperkoagulačných stavoch.

Zjednodušene dnes aterosklerózu definujeme ako zápalovo-degeneratívno-proliferatívne ochorenie artérií. Prvé hypotézy o rozvoji aterosklerózy preferovali význam zvýšenej hladiny cholesterolu vo vývoji aterosklerózy (Aničkov už v 19.storočí, neskôr Brown a Goldstein získali dokonca Nobelovu cenu za objav úlohy LDL receptora a vypracovanie tzv. cholesterolovej hypotézy vývoja aterosklerózy).

Dnes však vieme, že aterosklerózou môžu trpieť aj pacienti s relatívne nízkou hladinou cholesterolu a naopak často ju nemajú pacienti s vysokou hladinou cholesterolu (zlého - LDL cholesterolu).

Významným medzníkom v pochopení vývoja aterosklerózy bolo publikovanie inovovanej cholesterolovej hypotézy, tzv. Rossovej hypotézy vývoja aterosklerózy na sklonku 20 storočia, ktorá v princípe nie je ničím novým, len ku tradičným rizikovým faktorom aterosklerózy pridala aj subklinický vaskulárny zápal.

Vznikali otázky, čo tento zápal spôsobuje ? Prečo sú to však prevažne ľudia s vysokým cholesterolom, ktorí trpia aterosklerózou ? Zistilo sa, že prozápalovo pôsobí mnoho známych tradičných rizikových faktorov aterosklerózy – sú to najmä malé denzné LDL častice, je to predovšetkým oxidovaný LDL cholesterol, fajčenie, prítomnosť diabetu (najmä 2. typu,



artériová hypertenzia, ale aj fajčenie, ba dokonca aj potraviny môžu pôsobiť či už prozápalovo, alebo protizápalovo. Identicky, pravidelná fyzická aktivita pôsobí protizápalovo.

Pri posudzovaní lipidov je rozhodne nesprávne brať do úvahy len hladinu celkového cholesterolu. Oveľa dôležitejšie sú jeho subfrakcie (LDL, HDL, VLDL a ďalšie). Navyac, jednotlivé subfrakcie majú ďalšie podtypy a robia situáciu ešte komplikovanejšou. Sú tu aj triacylglyceroly (triglyceridy), ktoré ďalej sťažujú problematiku, môžu totiž pôsobiť proaterogénne, ale inokedy, najmä pri veľmi vysokých hodnotách nemajú aterogénny potenciál, ale zase sú schopné indukovať akútnu pankreatitídu. V poslednej dobe sa veľa hovorí aj o ďalších lipidových parametroch, najmä o polynenasýtených, mononenasýtených mastných kyselinách, z ktorých niektoré majú významný antiaterogénny (možno v rámci neho je najdôležitejší práve ich protizápalový účinok!). Klinické štúdie potvrdili, že populácie s vysokým príjmom omega-3 polynenasýtených mastných kyselín (n-3 PUFA) a naopak nízkym príjmom omega-6 PUFA (n-6 PUFA), nezávisle od prívodu nasýtených tukov (cholesterolu) majú nižší výskyt komplikovanej aterosklerózy ako ľudia s opačným pomerom týchto PUFA (Eskimáci pomer 1:1, úmrtnosť na koronárnu chorobu srdca (KCHS) je pritom u nich len okolo 7% a naproti tomu prevažne „vegetariáni“ – indická populácia má pomer n-6 PUFA ku n-3 PUFA 40-50:1, ale mortalita na KCHS dosahuje alarmujúce čísla – v mestskej populácii vyše 30-40%).

Preto neprekvapilo, že po pozitívnych výsledkoch hypolipidemických štúdií prevažne so statínmi, ktoré dramaticky redukovali mortalitu na KCHS znížením cholesterolu sa objavili snahy potvrdiť, či pretrvávajúce (pomerne vysoké) reziduálne riziko týchto pacientov sa nebude dať znížiť protizápalovou liečbou.

Najväčšou doteraz publikovanou štúdiou je v tomto ohľade štúdia CANTOS (Canakinumab Anti-Inflammatory Outcomes Study), kde bolo inkludovaných vyše 10 000 pacientov z 39 krajín so stabilnou KCHS, ale s anamnézou prekonaného nedávneho akútneho infarktu myokardu. Išlo o morbi-mortalitnú štúdiu, randomizovanú, dvojito zaslepenú, kde kľúčovým inklúznym kritériom nebola vysoká hladina LDL cholesterolu ale zvýšená hladina CRP  $\geq 2$  mg/L meraného vysokosenzitívnou metodikou (tzv.hsCRP).

Štúdie PROVE IT aj IMPROVE IT (obe u pacientov po akútnom infarkte myokardu) ukázali, že u mnohých pacientov i napriek intenzifikovanej liečbe najúčinnjšími statínmi (aj v kombinácii s ezetimibom) sa dá ešte znížiť tzv. reziduálne zápalové, či reziduálne



cholesterolové riziko (to cholesterolové – nedávno publikované dôkazy zo štúdií s PCSK9 inhibítormi – FOURIER s evolokumabom a ODYSSEY s alirokumabom).

Zníženie hladín hsCRP kanakinumabom v štúdií CANTOS prinieslo ďalšie zníženie kardiovaskulárneho rizika (tentokrát zápalového), zníženie nielen kardiovaskulárnej, ale aj celkovej mortality. Naviac, pomerne prekvapujúcim zistením zo štúdie CANTOS bola skutočnosť, že došlo aj ku signifikantnému poklesu úmrtnosti na akýkoľvek typ rakoviny a dokonca až o 77% poklesla úmrtnosť na pľúcnu rakovinu (možné vzťahy – cholesterol – fajčenie – zápalový proces a jeho potenciácia).

Štúdiá CANTOS ukázala, že blokovanie metabolickej premeny interleukínu 1beta na interleukín 6 s kanakinumabom znižuje výskyt KV príhod a potenciálne aj výskyt pľúcnej rakoviny a úmrtí s ňou spojených. Štúdiá tak poskytla jednoznačné potvrdenie konceptu, že inhibícia zápalu, pri neprítomnosti ďalšieho znižovania lipidov (teda u pacientov na stabilnej hypolipidemickej liečbe, spravidla statínovej) môže viesť ku ďalšiemu poklesu výskytu kardiovaskulárnych príhod. Výskyt reziduálneho zápalového rizika sa na podklade dostupných dát odhaduje na úroveň zhruba 30% pacientov po prekonaní akútneho infarktu myokardu. U tých, kde kanakinumab dokáže redukovať zápalový proces, by liečba znamenala dramatické zlepšenie ich prognózy.



## Úloha adultných MSC v regeneračnej medicíne

*Tímea Špaková, Ján Rosocha*

*Univerzita Pavla Jozefa Šafárika v Košiciach Lekárska fakulta – Združená tkanivová banka*

**Kľúčové slová:** bunková terapia, regeneračná medicína, ľudské mezenchýmové kmeňové bunky, terapeutické použitie

Bunková terapia predstavuje reálnu alternatívu pre liečbu mnohých degeneračných a civilizačných chorôb, pričom jej hlavným cieľom je nahradiť, opraviť alebo zlepšiť funkciu poškodeného tkaniva alebo orgánu. Výskum v oblasti bunkovej terapie stále napreduje a v súčasnej dobe zahŕňa progresívne smery, ako je imunoterapia pre autoimunitné ochorenia a liečba nádorov, príprava kmeňových buniek a syntéza biokompatibilných polymérov, indukované pluripotentné bunky, bunkové inžinierstvo.

Pod pojmom kmeňové bunky si môžeme predstaviť unikátne bunky v organizme, ktoré majú schopnosť delenia a dlhodobej sebaobnovy počas celého života jedinca. Sú to pluripotentné bunky a dávajú základ viacerým tkanivovo špecifickým líniam. Hlavnou úlohou kmeňových buniek v dospelých tkanivách je udržať konštantný počet diferencovaných buniek daného tkaniva náhradou odumretých alebo stratených buniek pri poranení procesom autodiferenciácie alebo podporou / stimuláciou regeneračných procesov lokálne priamo v poškodenom tkanive. Na základe súčasných vedeckých výsledkov, kmeňové bunky majú evidentne preukázané protizápalové účinky a sú schopné podporiť úspešnú regeneráciu tkanív – sú pritom nediferencované, exprimujú nízku hladinu MHC antigénov, majú schopnosť diferenciácie a migrácie, a pod vplyvom lokálnych faktorov sú schopné zapojiť sa do produkcie tkanivovo špecifických elementov (1). Možnosť využitia MKB v regeneračnej medicíne je neustále predmetom intenzívneho klinického výskumu. MKB predstavujú multipotentné nehematopoetické progenitorové bunky schopné *in vivo* a *in vitro* podmienkach diferencovať sa do viacerých, pôvodom mezenchýmových bunkových populácií. MKB sú čiastočne privilegované imunitným systémom a okrem schopnosti tkanivovej rekonštrukcie sú schopné vzhľadom na povahu zmien v poškodenom tkanive „priaznivo“ ovplyvniť mikroprostredie poškodeného tkaniva, napríklad aj vylučovaním celej



škály imunomodulačných a trofických faktorov ako sú cytokíny, chemokíny, rastové faktory, a iné biologicky aktívne molekuly.

Z hľadiska efektívnosti, bezpečnosti a kvality produktov založených na MKB je dôležité určiť a dodržiavať fázy výrobného procesu od výberu darcu cez izoláciu, expanziu, kryokonzerváciu a uvoľnenie. Základne parametre, ktoré sa hodnotia počas celého procesu sú nasledovné: darca buniek musí byť testovaný na vírusové ochorenia (HTLV-1, HTLV-2 a CMV, HIV-1, HIV-2, HBV, HCV, Trepanoma pallidum, encefalopatia), kvalita a bezpečnosť izolovaných buniek musí byť potvrdená pomocou testov na baktérie, huby, mykoplazmu, sleduje sa tumorigenicita, morfológia, fenotyp a viabilita buniek. Čistota buniek je zabezpečená testami na endotoxíny a reziduálne kontaminanty, čistota a potenciál buniek je potvrdený testami na klonogenicitu, imunosupresivitu a multilineárnu diferenciáciu, pričom sa overuje aj ich stabilita v rôznych podmienkach. Vo finálnej fáze, kedy je produkt kryokonzervovaný alebo uvoľnený, systém skladovania a stabilita majú byť prísne kontrolované. Každý jeden krok v celom procese má byť dôkladne navrhnutý, validovaný a štandardizovaný, aby sa dosiahol reprodukovateľný výsledok.

Keď je pripravený produkt na klinické skúšanie, nasledujú jednotlivé fázy skúšania, v ktorých musia byť dodržané zásady Správnej laboratórnej praxe (GLP), Správnej klinickej praxe (GCP) a Správnej výrobnjej praxe (GMP). Úspech bunkovej terapie závisí od viacerých faktorov, a to jednak od : a) správneho výberu a spracovania kmeňových buniek (dospelé, embryonálne, neurálne kmeňové bunky, indukované pluripotentné kmeňové bunky), b) spôsobu ich aplikácie (systémové, lokálne transplantácie), c) určenia optimálnej dávky (jednorazové, kontinuálne niekoľkodňové podávanie), ale aj od d) správneho načasovania transplantácie (počas akútnej, chronickej fázy ochorenia). Klinické skúšania sú zamerané hlavne na testovanie efektívnej dávky, dĺžky liečby, spôsobu podania, pričom sú dôležité aj kritéria pre výber pacientov a veľkosť testovanej skupiny v závislosti od fázy skúšania a typu produktu. Všeobecné pravidlá a podmienky pre výrobu nových liekov s MKB sa líšia medzi krajinami.

V EÚ tieto usmernenia týkajúce sa požiadaviek na testy kvality, bezpečnosti a účinnosti liekov uverejňuje Európska lieková agentúra (EMA), ktorá je decentralizovaným regulačným orgánom EÚ a jej hlavným poslaním je vykonávať kontrolu a hodnotenie liekov a spravuje niekoľko výborov, vrátane Výboru pre inovatívnu liečbu (CAT). Hlavnou úlohou výboru je





posudzovanie nových liekov určených na inovatívnu liečbu z hľadiska ich účinnosti, bezpečnosti a etiky. Lieky na somatickú bunkovú terapiu, lieky na génovú terapiu a produkty tkanivového inžinierstva sú kategorizované ako Lieky na inovatívnu liečbu a podliehajú regulačným princípom, ktoré sú ustanovené v smernici 2001/83/ES. Avšak nakoľko ide o nový typ liečby, požiadavky, týkajúce sa kvality, predklinických a klinických údajov potrebných na preukázanie kvality, bezpečnosti a účinnosti týchto liekov sú dodatočne špecifikované v nariadení 1394/2007. Doposiaľ bolo registrovaných 10 liekov na inovatívnu liečbu v EÚ (Tab. 1). Naposledy schváleným liekom s kmeňovými bunkami je Alofisel, ktorý sa používa na liečbu perianálnej fistuly u pacientov s Crohnovou chorobou.

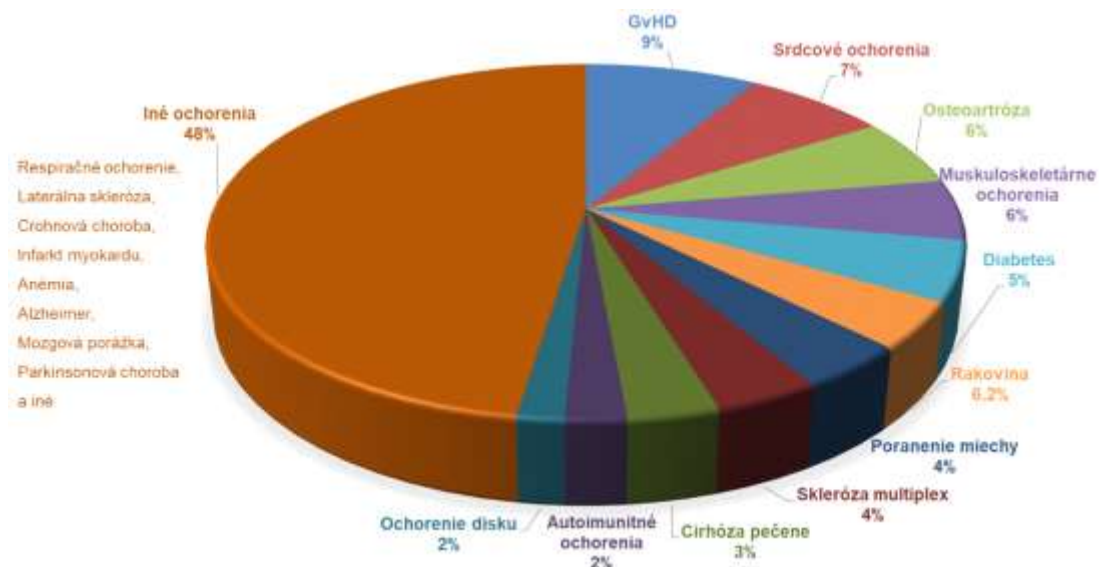
Produkt (Výrobca)	Popis	Indikácia	Autorizácia/Stav
Alofisel (Tigenix)	expandované ľudské alogénne mezenchymálne dospelé kmeňové bunky extrahované z tukového tkaniva	perianálne fistuly u pacientov s Crohnovou chorobou	2018/schválené
Spherex (CO.DON)	sféroidy vytvorené z autológných buniek chrupavky a chrupavkového materiálu	defekty kĺbovej chrupky kolena	2017/schválené
Zalmoxis (MolMed)	geneticky modifikované T bunky	vysokorizikové hematologické malignity	2016/schválené
Strimvelis (GSK)	autológná bunková frakcia obohatená o CD34+ bunky, ktoré sú transdukované retrovirusovým vektorom, ktorý kóduje sekvenciu cDNA ľudskej ADA	ťažký kombinovaný imunodeficit spôsobený deficitom adenozyndeaminázy (ADA)	2016/schválené
Imlygic (Amgen)	oslabený vírus herpes simplex typu 1	neresekovateľný melanóm	2015/schválené
Holoclar (Chiesi)	autológne epitelové bunky ľudskej rohovky expandované ex vivo	ochorenia rohovky	2015/schválené
Provenge (Dendreon)	autológne mononukleárne bunky periférnej krvi aktivované pomocou PAP-GM-CSF	karcinóm prostaty	2013/pozastavené v roku 2015
MACI (Genzyme)	autológne kultivované chondrocyty zasadené do membrány	symptomatické, hlboké defekty chrupky kolena	2013/pozastavené v roku 2014
Glybera (UniQure)	alipogén tiparvovek	deficit lipoproteinovej lipázy	2012/pozastavené v 2017
Chondroselect (Tigenix)	autológne bunky chrupky expandované ex vivo, exprimujúce špecifické markerové proteíny	poruchy chrupky femorálneho kondylu kolena u dospelých	2009/pozastavené v 2016

**Tab. 1** Registrované lieky na inovatívnu liečbu v EÚ.

V databáze klinických skúšaní evidovaných na stránke [www.clinicaltrials.gov](http://www.clinicaltrials.gov) je v súčasnosti registrovaných 578 klinických skúšaní, v ktorých sledujú terapeutický potenciál produktov založených na MKB. Najväčšie aktivity vo výskume a aplikácii MKB sú zaznamenané v Ázii (hlavne v Číne), Európe a v Amerike (hlavne v USA). Z dát získaných z databázy klinických skúšaní ďalej vyplýva, že najviac využitým zdrojom MKB je stále kostná dreň a potom nasledujú ďalšie eticky nezávadné zdroje, ako je placenta, tukové tkanivo, pupočná šnúra a iné. Od roku 2001 doteraz je zaznamenaný kontinuálny nárast počtu klinických skúšaní, pričom väčšina z nich sa nachádza stále vo fáze I a II, a iba 5% sa nachádza vo fáze III, čo naznačuje, že testovanie liekov s MKB napreduje v klinickej praxi



pomalšie. Terapia pomocou MKB v rámci klinických skúšaní sa úspešne používa pri liečbe viacerých ochorení (Obr. 1).



**Obr. 1** Počet klinických skúšaní podľa indikácie.

Výskum adultných kmeňových buniek sa v uplynulom období stal aktuálnou výskumnou témou aj na Slovensku. Počiatky výskumu sa datujú k roku 1999, kedy boli Dr. Rosochom s jeho kolektívom na pracovisku ZTB UPJŠ a UNLP Košice po prvý krát na Slovensku izolované, kultivované a charakterizované ľudské mezenchýmové kmeňové bunky (hMKB) z kostnej drene pacienta. Výskum na Slovensku sa v tejto oblasti vyvíjal smerom k overovaniu rôznych aplikácií autológnych hMKB a to na protizápalové, protinádorové, proregeneračné a trofické účely.

V Združenej tkanivovej banke už niekoľko rokov sa intenzívne venujeme výskumu MKB, pričom sa zameriavame na ich izoláciu, charakterizáciu, proliferáciu a diferenciačný potenciál MKB izolovaných z koskej drene, tukového tkaniva, synoviálnej tekutiny, synoviálnej membrány a periostu. V rámci domácich vedeckých projektov sledujeme vplyv alogénnych kostných štepov na osteogénnu diferenciáciu MKB (2), ďalej sa intenzívne venujeme výskumu OA a možnostiam liečby využitím biologických produktov (3). V rámci projektu APVV testujeme biokompatibilitu a interakciu 3D printovaných biomateriálov s kmeňovými bunkami. V spolupráci s viacerými klinickými pracoviskami testujeme efektivitu liečby pomocou MKB na animálnych modeloch. Nami izolované, kultivované



a charakterizované bunky boli úspešne použité na liečbu poškodenej pečene potkana a na liečbu diabetu po aplikácii do pankreasu (4). V rámci regenerácie skeletu sme sa zamerali na liečbu defektov chrupky u kráľika pomocou kolagén-hyalurónovej membrány s chondrocytmí (5), ako aj pomocou MKB s plazmou bohatou na trombocyty (6). Kostné defekty u holubov boli liečené pomocou xenogénnych kostných štepov v kombinácii s MKB (7).

Združená tkanivová banka UPJŠ LF a UNLP v Košiciach je vybavená špičkovými prístrojmi, ktoré boli zakúpené z prostriedkov získaných z projektov štrukturálnych fondov EÚ: POKIMP (ITMS 26220220032), NEUREG (ITMS 26220120063) a MEDIPARK (ITMS 26220220185 a ITMS2014+:313011D103). Na našom pracovisku je vybudovaná technologická platforma poskytujúca základné a nadstavbové služby v oblasti prípravy tkanivových a bunkových kultúr v podmienkach správnej laboratórnej praxe a v čistých priestoroch triedy A s pozadím B. Umožňuje otvorenú bezmikróbnu manipuláciu a kultiváciu s biologickým materiálom v prostredí triedy A. Taktiež poskytuje mikroskopickú analýzu a fenotypovú charakterizáciu buniek, ktoré sú predmetom záujmu, ich imunomagnetickú separáciu, programovateľné zmrazovanie a dlhodobé uskladňovanie buniek v parách dusíka. Zariadenie je vybudované ako separátne jednotka, oddelená od okolitej prevádzky a vo svojej práci sa riadi princípmi správnej laboratórnej praxe so zvláštnym režimom práce vnútri.

V súvislosti so súčasnými poznatkami môžeme konštatovať, že liečba s MKB môže byť reálnym východiskom pre liečbu mnohých chorôb ale reálne a bezpečné využitie týchto buniek na terapeutickú liečbu v klinickej praxi musí byť potvrdené v predklinických a klinických experimentoch. Je dôležité, aby sa do tohto procesu overovania bunkovej terapie ako inovatívnej liečby sa zapojili aj lekári a vedci v rámci slovenského zdravotníctva. Ak chceme docieľiť úspešnosť a pokrok vo výskume je takisto dôležitá spolupráca výskumných tímov a vzájomné využívania nadobudnutej technickej infraštruktúry. Príprava mladých vedeckých a klinických pracovníkov v oblasti kmeňových buniek dáva možnosť zapojenia vedeckých projektov zo Slovenska aj do výskumného priestoru EÚ.

## Literatúra

1. Zachar L. a kol. (2016) Activation, homing, and role of the mesenchymal stem cells in the inflammatory environment . In: Journal of Inflammation Research. – Vol. 9, 231-240.



2. Plšíková J. a kol. (2016) The effect of human bone grafts on osteogenic differentiation of adipose tissue derived mesenchymal stromal cells in vitro. (2016) *European Cells and Materials*. - ISSN 1473-2262. - Vol. 32, Suppl. 3, p. 55.
3. Špaková T. a kol. (2018) Influence of kartogenin on chondrogenic differentiation of human bone marrow-derived MSCs in 2D culture and in co-cultivation with OA osteochondral explant. *Molecules*, 23(1), 181.
4. Katuchova J. a kol. (2012) Impact of different pancreatic microenvironments on improvement in hyperglycemia and insulin deficiency in diabetic rats after transplantation of allogeneic mesenchymal stromal cells. *J Surg Res. Nov*;178(1):188-95.
5. Horňák S. a kol. (2014) Reparation of chondral defects in rabbits by autologous and allogeneous chondrocytes seeded on collagen/hyaluronan scaffold or suspended in fibrin glue. *Acta Veterinaria*, 64(1), 61-72.
6. Špaková T. a kol. (2017) 1. A Preliminary Study Comparing Microfracture and Local Adherent Transplantation of Autologous Adipose-Derived Stem Cells Followed by Intraarticular Injection of Platelet-Rich Plasma for the Treatment of Chondral Defects in Rabbits. *Cartilage*. DOI: 10.1177/1947603517713816 | First Published June 13, 2017 online.
7. Harvanová D. a kol. (2014) Isolation, cultivation and characterisation of pigeon osteoblasts seeded on xenogeneic demineralised cancellous bone scaffold for bone grafting. *Vet Res Commun*. 38(3):221-8.



## **Farmakogenetika: možnosti využitia v individualizácii protinádorovej terapie**

*<sup>1</sup>Mojžiš Ján, <sup>1</sup>Mirossay Ladislav, <sup>2</sup>Šalagovič Ján, <sup>1</sup>Miroššay Andrej, <sup>3</sup>Fedoročko Peter, <sup>1</sup>Čižmáriková Martina*

*Ústav farmakológie, Lekárska fakulta UPJŠ, Košice<sup>1</sup>*

*Ústav lekárskej biológie, Lekárska fakulta UPJŠ, Košice<sup>2</sup>*

*Ústav biologických a ekologických vied<sup>3</sup>*

**Kľúčové slová:** farmakogenetika, individualizácia terapie, protinádorová terapia

### **Úvod**

Rozdiely v odpovedi na terapiu a toxicita liečiv u rôznych pacientov sú významným problémom v súčasnej onkologickej praxi. Protinádorové liečivá sa aplikujú na základe protokolov, ktoré sú výsledkom veľkých klinických štúdií, avšak nezohľadňujú individualitu pacienta. Lekár lieči pacienta, ktorý môže reagovať na terapiu úplne neočakávane rezultujúc do nedostatočnej terapeutickej odpovedi alebo do závažných nežiaducich účinkov, ktoré môžu byť až fatálne. Potreba optimalizácie protinádorovej terapie sa preto ukazuje byť veľmi naliehavá. Výpočet dávky chemoterapeutík na základe veľkosti plochy tela pacienta nezohľadňuje jednotlivé interindividuálne rozdiely v odpovedi na aplikované liečivo. Aplikácia aneoplastík v maximálne tolerovateľnej dávke výrazne zvyšuje riziko vzniku nežiaducich účinkov u pacientov, ktorí sa odlišujú od "priemernej" populácie.

Existujú početné faktory, ktoré vplývajú na rozdielnu terapeutickú odpoveď medzi pacientami ako napríklad vek, pohlavie, komorbidity, nutričný stav, liekové interakcie alebo stav eliminačných orgánov. V poslednom období však prudko narastá množstvo poznatkov o genetických príčinách interindividuálnych rozdielov v odpovedi na protinádorovú liečbu.

Najviac je študovaný genetický polymorfizmus u enzýmov zapojených do metabolizmu liečiv, ale sú známe genetické variácie aj v oblasti kódovania transportérov alebo cieľových molekúl. V onkológii je táto situácia komplikovanejšia, pretože okrem vrodenej genetických variácií sa môžu vyskytnúť aj somatické, nádorové mutácie, pričom vrodené génové variácie majú vzťah hlavne k toxicite liečiv, zatiaľčo genóm nádorových buniek sa viac dáva do súvislosti s terapeutickým efektom protinádorových liečiv.



Z uvedeného vyplýva, že genotypová stratifikácia môže pomôcť pri identifikácii pacientov s odlišnou reakciou na terapiu a poskytuje možnosť upraviť dávku liečiva resp. zmeniť liečivo pre individuálneho pacienta. Tento racionálny postup sa pomaly dostáva aj do terapeutickej praxe a čoraz častejšie sa hovorí o individualizácii terapie alebo o personalizovanej medicíne.

Pojem farmakogenetika prvý krát použil nemecký genetik Friedrich Vogel v roku 1959. Je to vedná oblasť študujúca individuálnu interakciu gén-liečivo; zvyčajne 1-2 gény, ktoré majú dominantný účinok na liečivo. Dnes sa častejšie používa termín farmakogenomika, ktorá študuje, ako ako všetky gény (genóm) môžu ovplyvniť účinok liečiva (Sadée a Dai, 2005).

V posledných dvoch dekádach boli objavené početné genetické polymorfizmy majúce vzťah k účinku alebo toxicite liečiv. V nasledujúcej časti sú uvedené príklady niektorých genetických variácií, ktoré môžu mať výrazný vplyv na efektívnosť protinádorovej terapie resp. na výskyt nežiaducich účinkov po aplikácii cytostatík.

### **Tiopurín metyltransferáza (TPMT)**

Purínové analógy (azatioprin, 6-merkaptopurín (6-MP) a 6-tioguanín) používané v terapii leukémií, autoimúnnych ochorení alebo pri transplantáciách orgánov podliehajú metabolickej aktivácii za vzniku 6-tioguaninových nukleotidov (TGN), ktoré sú zodpovedné za ich terapeutický účinok ale aj toxicitu. Jednou z vážnych komplikácií používania týchto liečiv je myelosupresia, niekedy život ohrozujúca (Tassaneeyakul a kol., 2003). TPMT katalyzuje S-metyláciu tiopurínových liečiv za vzniku inaktívnych metabolitov.

Genetický polymorfizmus TPMT patrí medzi najlepšie príklady aplikácie farmakogenetiky v klinickej onkológii. Klinické štúdie ukázali trimodálnu distribúciu aktivity TPMT. U kaukazoidnej populácie cca 89% subjektov sú nositelia dvoch tzv. divokých alel a aktivita TPMT je vysoká. Asi 11% populácie má strednú (heterozygoti s variantnou alelou) a priemerne 1 z 300 pacientov (homozygoti s obidvoma mutovanými alelami) má extrémne nízku alebo žiadnu aktivitu enzýmu. U týchto dochádza ku koncentrácii TGN v hematopoetickom aparáte, čo je príčinou hematotoxicity pozorovanej u týchto pacientov. Takmer tri štvrtiny pacientov s myelosupresiou po aplikácii purínových analógov patrí do skupiny s nízkou alebo chýbajúcou aktivitou TPMT. U týchto pacientov je možné z dôvodu prevencie fatálnej hematotoxicity znížiť dávku 6-MP až 15 násobne (McLeod a kol., 2000).



Na druhej strane homozygoti s vysokou aktivitou enzýmu môžu byť rezistentní na terapiu 6-MP. Z uvedeného vyplýva, že individualizácie terapie purínovými analógmi môže viesť k lepšej terapeutickkej odpovedi a zároveň k zníženiu rizika fatálnej myelosupresie.

### **Dihydropyrimidín dehydrogenáza (DPD)**

5-fluorouracil (5-FU) patrí medzi často používané liečivá pri terapii nádorov hlavy a krku, mliečnej žľazy žalúdka a kolorektálnych nádorov. Pri terapii 5-FU boli pozorované značné interindividuálne rozdiely v odpovedi na terapiu ako aj v toxicite. DPD je enzým zapojený do metabolizmu pyrimidínov ale zároveň zodpovedá aj za metabolizmus 5-FU. Predpokladá sa, že rozdiely v odpovedi na 5-FU majú svoju príčinu v genetickej variabilite génov kódujúcich DPD. Znížená/chýbajúca aktivita DPD môže viesť až k fatálnej myelosupresii indukovanej 5-FU (Boisdrón-Celle a kol., 2017). Prvýkrát poukázal na spojitosť medzi deficitom DPD a toxicitou 5-FU Tuchman a kol. (1985), ktorí pozorovali myelosupresiu, diarhoe, stomatitídu a neurologické symptómy u 27 ročnej pacientky s nádorom mliečnej žľazy, ktorá bola liečená 5-FU. Odvtedy bolo popísaných niekoľko sto prípadov ťažkej toxicity 5-FU v spojení s deficitom DPD.

Frekvencia výskytu heterozygotov v populácii s jednou variantnou alelou je asi 3%-8%. Úplná absencia aktivity (homozygoti s obidvoma variantnými alelami) je pomerne vzácna a vyskytuje sa asi u 0,1% populácie (Henricks a kol., 2017). Na druhej strane, vysoká aktivita DPD môže viesť k zlyhaniu terapie. Jednou z možností ako ovplyvniť slabú terapeutickú odpoveď je inhibícia DPD.

### **UDP-glukuronyltransferáza (UGT)**

Patrí medzi enzýmy katalyzujúce konjugáciu kyseliny glukuronovej so širokým spektrom endogénnych substancií a xenobiotík. Boli identifikované dva hlavné skupiny UGT: UGT1 a UGT2.

Irinotekan, inhibítor topoizomerázy I vykazuje značnú variabilitu v účinku a v toxických účinkoch, čo sa dáva do súvislosti s glukuronizáciou aktívneho metabolitu irinotekanu - SN-38. SN-38 zodpovedá za protinádorový účinok inhibíciou topoizomerázy I, pričom jeho inhibičná aktivita je rádovo vyššia ako aktivita materskej látky (Ramesh a kol., 2010). Za glukuronizáciu SN-38 je zodpovedná UGT1A1 izoforma patriaca do rodiny



početných glukuronyltransferázových enzýmov, ktoré sú kódované na chromozóme 2. Redukovaná expresia UGT1A1 vedie k zníženiu glukuronidácie SN-38. To vedie k akumulácii SN-38 a zvýšenému riziku vzniku hnačky a leukopénie počas terapie irinotekanom v porovnaní s pacientami s "divokým" typom (6 TA opakovaní). UGT1A1 je zodpovedná aj za konjugáciu bilirubínu a jej deficit sa klinicky manifestuje ako jeden z typov benígnej hyperbilirubinémie – Gilbertov syndróm. Pacienti s Gilbertovým syndrómom patria do skupiny so zvýšeným rizikom toxicity pri terapii irinotekanom.

### **Glutatión S-transferáza (GST)**

Konjugácia s glutatiónom patrí medzi významné metabolické dráhy pre početné hydrofóbne a elektrofilné zlúčeniny. U ľudí bol preukázaný genetický polymorfizmus u GSTM1, GSTT1 a GSTP1 (Ginsberg a kol., 2009). GSTM1 polymorfizmus je spojený s nulovou aktivitou GSTM1 u 40-50% ľudí z dôvodu delécie génu. Chemoterapeutiká ako napr. BCNU alebo cyklofosfamid sú substráty pre GSTM1. V súčasnosti, aj keď sú známe polymorfizmy GSTM1 ich klinický význam nie je známy. Podobne ako u GSTM1 aj polymorfizmus GSTT1 je spôsobený deléciou génu a vyskytuje sa asi u 25% populácie. Boli preukázané výrazné rozdiely vo frekvencii výskytu génovej delécie medzi jednotlivými rasami a etnickými skupinami. Polymorfizmus GSTP1 je zapríčinený polymorfizmom jediného nukleotidu (single nucleotid polymorphism; SNP). Jeho vplyv na katalytickú aktivitu enzýmu je malý a pravdepodobne nezohráva výraznú úlohu pri metabolizme cytotoxických látok.

### **Transportéry**

Množstvo poznatkov o úlohe liekových transportérov v absorpcii, distribúcii a exkrécii liečiv v posledných rokoch prudko narastá. Membránové proteíny tzv. ABC (ATP binding cassette) rodiny, môžu zohrávať významnú úlohu aj v distribúcii protinádorových liečiv. Medzi najznámejšie patria produkty MDR1 génu, ktorý kóduje P-glykoproteín (Pgp) a MRP génu, hlavne MRP1 (Multidrug-related resistance protein). Hlavnou úlohou týchto proteínov je eflux širokej škály substrátov z bunky. Zvýšená expresia týchto proteínov v nádorových bunkách je jednou z príčin zníženej odpovede na protinádorovú terapiu. V našej štúdii sme zistili, že u pacientok s nádorom prsírka liečených tamoxifénom s genotypom TC





polymorfizmu MDR1 (3435T>C) bol signifikantne najkratší čas do progresie (TC vs. TT+CC). Podobný trend bol zachovaný aj pri osobitnom hodnotení pacientok, u ktorých bol v čase diagnózy diagnostikovaný duktálny invazívny karcinóm. Výsledky poukazujú na možný vplyv polymorfizmu MDR1 (3435T>C) na vznik interindividuálnych rozdielov v liečebnej odpovedi na hormonálnu liečbu karcinómu prsníka (Čižmáriková a kol., 2017).

## Záver

Výrazným problémom v terapii nádorových ochorení je predikcia výsledku liečby (účinnosť na nádor alebo toxicita cytostatík), pričom genetická variabilita enzýmov metabolizujúcich liečivá (ale aj iné genetické polymorfizmy) zohráva dôležitú úlohu v interindividuálnych rozdieloch v odpovedi na terapiu. Z klinického hľadiska je dôležité identifikovať skupiny liečiv, ktoré vykazujú nepredpovedateľný účinok, ktorý môže byť geneticky determinovaný. Individualizácia terapie založená na genotype/fenotype vybraných metabolizujúcich enzýmov môže výrazne prispieť k zlepšeniu terapeutickému odpovedi, alebo k zníženiu rizika nežiaducich účinkov u onkologických pacientov.

## Literatúra

1. Sadée W, Dai Z. Pharmacogenetics/genomics and personalized medicine. *Hum Mol Genet.* 2005 14 Spec No. 2:R207-14
2. Tassaneeyakul W, Srimarthpirom S, Reungjui S, a kol. Azathioprine-induced fatal myelosuppression in a renal-transplant recipient who carried heterozygous TPMT\*1/\*3C. *Transplantation* 2003, 76, 265-266.
3. McLeod HL, Krynetski EY, Relling MV, a kol. Genetic polymorphism of thiopurine methyltransferase and its clinical relevance for childhood acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia* 2000, 14, 567-572
4. Tuchman M, Stoeckeler JS, Kiang DT, a kol. Familial pyrimidinemia and pyrimidinuria associated with severe fluorouracil toxicity. *N Engl J Med* 1985 313, 245-249.
5. Boisdron-Celle M, Capitain O, Faroux R, a kol. Prevention of 5-fluorouracil-induced early severe toxicity by pre-therapeutic dihydropyrimidine dehydrogenase deficiency screening: Assessment of a multiparametric approach. *Semin Oncol.* 2017 44, 13-23.



6. Henricks LM, Opdam FL, Beijnen JH, a kol. DPYD genotype-guided dose individualization to improve patient safety of fluoropyrimidine therapy: call for a drug label update. *Ann Oncol.* 2017, 28, 2915-2922.
7. Ramesh M, Ahlawat P, Srinivas NR. Irinotecan and its active metabolite, SN-38: review of bioanalytical methods and recent update from clinical pharmacology perspectives. *Biomed Chromatogr.* 2010, 24,104-23.
8. Ginsberg G, Smolenski S, Hattis D a kol. Genetic Polymorphism in Glutathione Transferases (GST): Population distribution of GSTM1, T1, and P1 conjugating activity. *J Toxicol Environ Health B Crit Rev.* 2009, 12, 389-439.
9. Čižmáriková M, Wagnerová M, Habalová V a kol. Polymorfizmus MDR1 (3435T>C) vo vzťahu k liečbe tamoxifénom u pacientok s karcinómom prsníka. *Acta Chemother* 2017, 26, 50-56.



## **Nové možnosti a budúcnosť diagnostiky a liečby neurodegeneratívnych ochorení**

*doc. MUDr. Matej Škorvánek, PhD.,<sup>1,2</sup> prof. MUDr. Zuzana Gdovinová, CSc., FESO, FEAN<sup>1,2</sup>*

<sup>1</sup>Neurologická klinika LF UPJŠ, Košice

<sup>2</sup>Neurologická klinika UNLP, Košice

**Kľúčové slová:** Parkinsonova choroba, next-generation sequencing, biomarkery, a-synukleín

Oblasť neurodegeneratívnych resp. extrapyramidových ochorení zažíva v poslednom období vďaka rozvoju diagnostických a terapeutických možností významný rozvoj, nebývalý v predchádzajúcich desaťročiach. Tieto zmeny sa odrážajú predovšetkým v 4 základných pilieroch, ktoré budú bližšie prediskutované v príspevku, konkrétne nové možnosti genetického testovania – next-generation sequencing, identifikáciu multimodálnych biomarkerov prodromálnych štádií neurodegeneratívnych ochorení, identifikáciu typickej patológie neurodegeneratívnych ochorení v biopsiách periférneho nervového systému a nové poznatky spájajúce imunológiu s neurodegeneratívnymi ochoreniami, ktoré ponúkajú množstvo potenciálnych terapeutických implikácií.

Veľká časť neurodegeneratívnych resp. extrapyramidových ochorení má genetický podklad, pričom sa vo všeobecnosti jedná až na niekoľko výnimiek o tzv. orphan diseases a teda ich diagnostika a diferenciálna diagnostika je veľmi náročná. Techniky next generation sequencing so sebou prinášajú významný pokrok práve v identifikácii nových genetických ochorení ale aj nových fenotypov už známych ochorení, ktoré by inak nebolo možné jednoducho identifikovať. V neurológii už totiž dávno neplatí, že jeden genotyp je reflektovaný jediným fenotypom ochorenia, ale vieme že tieto fenotypovo-genotypové korelácie môžu byť výrazne variabilné a často inak nedodiagnostikovateľné (napr. pacient s identifikovanou mutáciou génu ataxia-telangiektazia, u ktorého sa ochorenia manifestuje izolovanou dystóniou bez ataxie a bez telangiektázií). V súčasnosti je zrejmé, že jeden genotyp môže byť prezentovaný viacerými fenotypmi (Necpal & Škorvánek 2017, Olgiami, Škorvánek et al. 2016) a naopak jeden fenotyp ochorenia môže byť podmienený mutáciou viacerých génov. Diferenciálne diagnostické doriešenie genetickej mutácie navyše nemá len akademický dopad, nakoľko existuje asi 40 veľmi zriedkavých monogénových extrapyramidových ochorení, pre ktoré existuje pri stanovení správnej diagnózy kauzálna



liečba, ktorá dokáže výrazne zmeniť klinický obraz ochorenia a zlepšiť kvalitu života pacientov.

Druhou významnou oblasťou je diagnostika neurodegeneratívnych ochorení ešte v ich prodromálnej fáze a lepšie pochopenie ich patofyziológie a možností terapeutického ovplyvnenie. V dnešnej dobe sú všetky neurodegeneratívne ochorenia vo svojej podstate považované za proteinopatie, pri ktorých sa v nervovom systéme pacientov hromadí určitý typ patologickej bielkoviny, ktorý sa dokáže šíriť tzv. prion-like mechanizmom a poškodzovať jednotlivé jeho časti. Typická je napr. akumulácia  $\alpha$ -synukleínu u pacientov s Parkinsonovou chorobou,  $\beta$ -amyloidu pri Alzheimerovej chorobe alebo tau proteínu pri frontotemporálnej lobárnej degenerácii. Táto akumulácia začína postupne, pričom prvé štádiá ochorenia nemajú žiaden klinický korelát a teda toto štádium označujeme ako predklinické. Po tomto štádiu nasleduje ďalšie prodromálne štádium, kedy ešte nie sú prítomné typické prejavy ochorenia, ako napríklad motorické prejavy pri Parkinsonovej chorobe, avšak pacienti už manifestujú viacero typických klinických prejavov, ako napríklad poruchu správania v REM spánku, hyposmiu, obštipáciu a podobne. Recentne boli na podklade zlepšujúcich sa vedomostí v tejto oblasti publikované prvé výskumné diagnostické kritériá pre prodromálnu Parkinsonovu chorobu, ktoré využívajú multimodálne biomarkery pre odhalenie pacientov vo vysokom riziku vzniku plne manifestnej Parkinsonovej choroby (Berg et al. 2015). Doteraz ale žiaden z týchto biomarkerov nie je sám o sebe dostatočne senzitívny a špecifický pre jednoznačné stanovenie diagnózy Parkinsonovej choroby, a preto je veľmi zaujímavou oblasťou súčasného výskumu stanovovanie prítomnosti typickej  $\alpha$ -synukleinovej patológie v periférnom nervovom systéme. V tejto oblasti sme recentne v spolupráci s kolegami z Viedne a Barcelony vyvinuli doteraz najpresnejšiu metodiku na stanovovanie črevného  $\alpha$ -synukleínu in vivo (Škorvánek et al 2018). Pochopenie mechanizmu a úlohy akumulácie patologických bielkovín v nervovom systéme nám tiež poskytuje nové terapeutické možnosti redukcie akumulácie a šírenia týchto bielkovín cestou aktívnej alebo pasívnej imunizácie ako aj podávania tzv. malých molekúl (napr. anle138b). Novinkou je takisto identifikácia receptorov, ktoré sú nevyhnutné pre šírenie patologických bielkovín medzi bunkami (napr. LAG3 receptor), ktoré by nám mohli v budúcnosti poskytnúť ďalšie ciele pre terapiu monoklonálnymi protilátkami. V oblasti výskumu prodromálnej Parkinsonovej choroby je Neurologická klinika LF UPJŠ a UNLP Košice v spolupráci s viacerými domácimi



a zahraničnými pracoviskami vysoko aktívna, pričom v blízkej budúcnosti očakávame publikovanie viacerých významných a inovatívnych poznatkov.

## Literatúra

1. Nepcal J, Škorvánek M. Ataxia Telangiectasia gene mutation in isolated segmental dystonia without ataxia and telangiectasia. *Mov Disord Clin Pract* 2018; 5: 89-91
2. Olgiati S, Skorvanek M, Quadri ML, et al. Paroxysmal exercise-induced dystonia within the phenotypic spectrum of ECHS1 deficiency. *Mov Disord* 2016; 31: 1041-1048.
3. Berg D, Postuma R, Adler CH, et al. MDS research criteria for prodromal Parkinson's disease. *Mov Disord* 2015; 30: 1600-1609.
4. Skorvanek M, Gelpi E, Mechirova E, et al. a-synuclein antibody 5G4 identifies manifest and prodromal Parkinson's disease in colonic mucosa. *Mov Disord* 2018 Feb 7 [Accepted] DOI: 10.1002/mds.27380



## **UVP MediPark – strategický integrovaný biomedicínsky výskum**

*Pavol Jarčuška, Ján Rosocha, Linda Babušik Adamčíková*

*Univerzita Pavla Jozefa Šafárika v Košiciach*

**Kľúčové slová:** UVP MediPark, biomedicínsky výskum, aplikovaný výskum, transfer

Univerzita Pavla Jozefa Šafárika v Košiciach, ako hlavný partner, spolu s Univerzitou veterinárskeho lekárstva a farmácie, Biomedicínskym centrom SAV a Technickou univerzitou v Košiciach, ako partnermi, realizuje projekt Medicínsky univerzitný vedecký park v Košiciach (MediPark, Košice - Fáza II.). Strategickým cieľom projektu je vybudovanie Univerzitného vedeckého parku MediPark Košice (UVP MediPark) ako špičkového národného centra pre výskum a vývoj a transfer poznatkov do praxe v oblasti medicíny. Realizácia projektu bude ukončená k 30. júna 2018.

Strategickým cieľom projektu je vybudovanie UVP MediPark, Košice ako špičkového národného a medzinárodného centra pre aplikovaný výskum a vývoj a transfer jeho výsledkov do praxe v oblasti medicíny. Akademickými inštitúciami zúčastňujúcimi sa na realizácii projektu sú: Univerzita P.J. Šafárika (Lekárska a Prírodovedecká fakulta), Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie (UVLF), Biomedicínske centrum SAV (predtým Neurobiologický ústav SAV – NbÚ SAV) a Technická univerzita v Košiciach (TUKE).

UVP MediPark vznikol realizovaním dvoch projektov, ktoré formou fázovania na seba nadviazali: Medicínsky univerzitný vedecký park v Košiciach (MediPark, Košice) v období od 10.7. 2013 do 20.11.2015a Medicínsky univerzitný vedecký park v Košiciach (MediPark, Košice – Fáza II.), ktorý vbol realizovaný v období do 11.3.2017 do 30.6.2017

Ciele projektu boli splnené. v troch základných skupinách aktivít:

- 1) Vybudovanie fyzickej infraštruktúry UVP MediPark, Košice ako sofistikovaného technologického celku na Triede SNP 1 v Košiciach. Druhou stavbou realizovanou v rámci budovania fyzickej infraštruktúry UVP MediPark, Košice bude pavilón chirurgie a PGA malých zvierat v Univerzitnej veterinárskej nemocnici (UVLF).
- 2) Realizácia špičkového aplikovaného výskumu vo vybraných oblastiach vedy, vrátane jeho spoločensko-humanitnej dimenzie premietnutej do verejného zdravotníctva v piatich kľúčových (CORE) výskumných programoch:



- Farmakogenetika a individualizácia liečby
- Metabolizmus – ateroskleróza - starnutie
- Neurovedy
- Regeneračná a reprodukčná medicína
- Zoonózy a významné infekčné choroby

3) Organizačné a riadiace zabezpečenie chodu UVP MediPark, Košice zamerané na

- a) podporu aplikovaného výskumu v kľúčových (CORE) vedeckých zameraniach,
- b) zabezpečenie intelektuálneho vlastníctva výsledkov aplikovaného výskumu,
- c) transfer týchto výsledkov do realizačnej praxe prostredníctvom spin-off postupov.

UPJŠ plánuje v rámci projektu, na základe spolupráce s centrami partnerských inštitúcií – UCITT (TUKE) a CEKOODUV (SAV) zameranými na komercializáciu poznatkov a ochranu duševného vlastníctva vybudovať komplexné inštitucionálne zázemie pre transfer výsledkov výskumu a vývoja do praxe.

Výsledkami výskumnej činnosti v UVP MediPark, Košice s transferom do klinickej praxe sú: rozvoj personalizovanej medicíny v liečbe nádorových chorôb ako aj v oblasti reprodukcie; využitie inovatívnych postupov v prevencii, diagnostike a liečbe vnútorných chorôb; využitie nových technológií v mikrochirurgii a minimálne invazívnej endoskopickej chirurgii; inovatívna liečba degeneratívnych ochorení a úrazov nervových tkanív ako aj degeneratívnych ochorení a úrazov skeletu; tlmenie šírenia zoonóz a významných infekčných chorôb .

V rámci I. fázy projektu prebiehalo organizačné a riadiace zabezpečenie budovania a chodu UVP MEDIPARK, Košice, ktoré bolo zamerané na vytvorenie kvalitného vedeckého manažmentu a zabezpečenie udržateľnosti UVP, vrátane zvýšenia miery využívania inštitútov ochrany duševného vlastníctva. Vytvoril sa komplexný systém na ochranu duševného vlastníctva a transfer poznatkov a technológií do praxe. Prebiehalo zabezpečenie obstarávania fyzickej infraštruktúry v rovine zabezpečovania transparentného výberu dodávateľov stavebných činností a technologických celkov.

Vykonávali sa stavebné práce a dodávky súvisiace s výstavbou a rekonštrukciou priestorov MediParku, konkrétne budovy UPJŠ, Trieda SNP, kde prebiehala rekonštrukcia a úpravy prevádzkových súborov budovy. Rekonštrukcia budovy bola postupná v rámci časového harmonogramu realizácie aktivít projektu.



Finančné prostriedky na rekonštrukciu budovy v I. fáze projektu MEDIPARK sa vyčerpali v objeme 8 222 472,43 € celkovo oprávnených výdavkov.

Počas realizácie aktivít projektu UVP MediPark I. fáza sa uskutočnila dodávka IKT zariadení vo výške 2 448 087,63 € a dodávka prístrojov a zariadení vo výške 2 779 763,48 € z celkovo oprávnených výdavkov.

Projekt MEDIPARK z objektívnych dôvodov nebolo možné ukončiť v rámci programovacieho obdobia 2007 - 2013 z Operačného programu výskum a vývoj. Celkové čerpané oprávnené výdavky boli I. fázy projektu UVP MediPark boli 21 832 849,92 €. MŠVVaŠ SR pristúpilo k fázovaniu projektu.

V priebehu realizácie projektu Medicínsky univerzitný vedecký park v Košiciach (MediPark, Košice - Fáza II.) boli dokončené stavebné práce, práce na datacentre, prebehla inštalácia laboratórneho nábytku, bol dodaný a nainštalovaný dieselagregát a aplikačný softvér. Projekt bol realizovaný v rámci operačného programu Výskum a Inovácie s celkovými oprávnenými výdavkami 10 184 338,65 EUR.

V nadväznosti najmä na úspešnú realizáciu a výsledky implementácie projektov UVP MediPark MEDIPARK, CELIM (FP7), TECHNICOM, PROMATECH (ŠF EU) bol zriadený k 1.septembru 2017 na UPJŠ Technologický a inovačný park ZPJŠ (TIP – UPJŠ) s cieľom vytvoriť centrum vedecko-technologickej excelencie na UPJŠ vo vybraných vedných oblastiach s ambíciou profesionálne rozvinúť na UPJŠ oblasť transferu technológií do hospodárskej a spoločenskej praxe. TIP- UPJŠ vznikol ako vedecko-výskumné a vývojové centrum so špičkovou infraštruktúrou a schopnosťou plného zapojenia sa do medzinárodného výskumného prostredia, s dispozíciou pre interdisciplinárny výskum, vývoj a inovácie. Na báze výsledkov uvedených projektov sa bude postupne realizovať jeho činnosť v štyroch technologicko-inovačných centrách: Centrum interdisciplinárnych biovied (CIB), Centrum translačnej a klinickej medicíny (CTCM), Centrum informatiky a informačných technológií (CIIT) a Centrum progresívnych materiálov (CPM) so zameraním: nano-medicína, regeneračná medicína, personalizovaná medicína, starnutie, životné prostredie, informačné a znalostné systémy, kybernetická bezpečnosť, komunikačné a kolaboračné systémy, vývoj progresívnych materiálov s potenciálom aplikácií v humánnej medicíne, nanotechnológiách a informačných technológiách na báze súčasného personálneho zabezpečenia v rámci jednotlivých fakúlt. Predpokladá sa dopĺňovanie o nové zamerania a kontinuálne zapájanie





nových zamestnancov na základe predložených inovatívnych projektov, preto sa navrhuje v organizačnej štruktúre vytvorenie tzv. „FREE ZÓNY“.

**Prínosmi UVP MediPark a TIP – UPJŠ sú:**

- vybudovanie významného európskeho strediska kapitalizovateľného výskumu a aplikácií, s efektívne fungujúcim zázemím pre podnikateľské aktivity v high-tech priemysle,
- členstvo v Európskych vedeckých (ERA ) a technologických (ETP) sieťach,
- vysoký potenciál v príspevku k rastu regionálnej/národnej ekonomiky a rastu zamestnanosti (cez vytvorenie nadštandardných podmienok pre investorov do high-tech sféry prostredníctvom ponuky výsledkov kapitalizovateľného výskumu),
- vysoký potenciál pre transfer technológií s výstupmi cez vlastné start-up spoločnosti,
- reálna spolupráca s high-tech priemyslom vo vybraných oblastiach.



## **Medipark ako koncept „one health“ – prepojenie humánnej a veterinárnej medicíny**

*Juraj Pistl, Štefan Vilček*

*Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach*

**Kľúčové slová:** UVP MediPark, infekčné choroby, zoonózy, probiotiká

Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach (UVLF) už niekoľko rokov rozvíja koncept vedecko-výskumnej činnosti „Jeden svet, jedno zdravie“. Jedná sa o prepojenie humánnej a veterinárnej medicíny v oblastiach ako sú infekčné choroby, životné prostredie, hygiena a bezpečnosť potravín a regeneračná medicína. Tento koncept bol plne rozvinutý v oblasti infekčných chorôb a zoonóz v UVP MediPark. Úspešná realizácia uvedeného projektu znamenala z hľadiska univerzity ako aj regiónu viacero významných prínosov, medzi ktoré patrí stavebne načas ukončená nová budova Mediparku, priestorové a prístrojové špičkové vybavenie, ktoré vytvára predpoklad pre priamu nadväznosť aj na oblasti Mediparku ako sú neurovedy a regeneračná medicína. Prístrojové vybavenie umožňuje širokú paletu vyšetrení a invazívnych experimentov na zvieratách, vývoj zvieracích modelov a kuratívnu činnosť. Vysoký štandard diagnostických a liečebných zákrokov na úrovni súčasného vedeckého poznania signifikantne zvýšil význam UVLF v regióne a na Slovensku.

Moderné priestory s vysokou úrovňou welfare pre pokusné a choré zvieratá vytvorili predpoklady pre aktívnu spoluprácu UVLF s LF UPJŠ, Neuroimunologickým ústavom SAV v Bratislave, Neurobiologickým ústav SAV v Košiciach, Ústavom fyziológie hospodárskych zvierat SAV v Košiciach, Parazitologickým ústavom SAV v Košiciach, TU v Košiciach a Nemocnicou Košice-Šaca.

Ciele UVLF v aktivite 3.5. boli nasledovné:

- Vývoj molekulovo-genetických metód na detekciu a genotypizáciu mikroorganizmov s využitím metód genomiky a proteomiky
- Monitorovanie epidemiologicko/epizootologickej situácie u závažných chorôb ľudí a zvierat klasickými metódami a metódami molekulovej epidemiológie/epizootológie
- Charakterizáciu genómov vírusov, baktérií a parazitov ako aj génov laktobacilov zodpovedných za interakciu s hostiteľom
- Štúdium diferenciálnej expresie génov a syntéza proteínov v infikovaných bunkách



- Štúdium epitopov pre dôležité infekčné agensy
- Vypracovanie účinných metód potencovania špecifickej a nešpecifickej imunitnej odpovede u ľudí a zvierat na báze probiotík a imunomodulátorov, vrátane vakcín

#### Konkrétne vedecké a odborné výstupy a výsledky:

##### *Vývoj molekulovo-genetických metód na detekciu a genotypizáciu mikroorganizmov*

- Štandardizovala sa metóda súčasnej RT-PCR detekcie vírusu západného Nílu (WNV) a vírusu kliešťovej encefalitídy (TBEV) s následnou genetickou analýzou založenou na univerzálnom páre primerov PANFLAVI pre detekciu flavivírusov v kombinácii s reverznou hybridizáciou a PCR metóda na diagnostiku mikrofilárií *Dirofilaria immitis* a *D. repens* v krvi a tkanivách mäsožravcov a v komároch
- Bola vyvinutá multiplexná PCR metóda na identifikáciu druhov pakomárikov z podrodu *Avaritia* a DNA barcoding COI génu.

##### *Monitorovanie epidemiologicko/epizootologickej situácie u závažných chorôb ľudí a zvierat*

Bola monitorovaná epidemiologicko/epizootologická situácia u závažných infekčných chorôb ľudí a zvierat spôsobených vírusovými patogénmi ako sú vírus horúčky Západného Nílu (WNV) a Usutu vírus, prenášaných komármi a vírus kliešťovej encefalitídy (TBEV), prenášaný kliešťami. Zistila sa genetická rôznorodosť vírusov prenosných na ľudí u voľne žijúcich vtákov:

- Získalo sa viacero prioritných výsledkov: prvý krát bol detegovaný WNV u dravcov, ktoré uhynuli za klinických príznakov infekcie centrálného nervového systému, prvý záznam o autochtónnej WNV infekcii koňa na strednom Slovensku v horskej oblasti Kremnické vrchy; prvý záznam o protilátkach voči vírusu Západného Nílu u ľudí s nervovými poruchami a prvý záznam o protilátkach voči Usutu vírusu u vtákov na Slovensku
- Zaznamenal sa vysoký podiel línie 2 WNV u vtákov, čo poukazuje na šírenie do severných krajín tejto sub-saharskej línie WNV
- Protilátky voči WNV u vrabca domáceho poukázali na endemický prenosný cyklus tohto vírusu medzi vtákmi a komármi v danej lokalite na východnom Slovensku
- Genetická analýza vírusu kliešťovej encefalitídy u kliešťov v oblasti Prešov-Dúbrava – naznačila cirkuláciu príbuzného endemického kmeňa Hypr.



Významné výsledky sa dosiahli aj pri ďalších patogénoch:

- Dokázala sa prítomnosť Microsporidia spp., *Encephalitozoon hellem*, a *Enterocytozoon bieneusi* v populáciách insektivorných netopierov
- Prvýkrát boli detegované mikrofilárie *Dirofilaria* spp. v komároch druhu *Aedes vexans*
- PCR metódami sme ako prví v Európe dokázali výskyt psieho genotypu C *Giardia duodenalis* u pacienta na Slovensku. Prvýkrát sa zaznamenal výskyt zoonotických asembláží A, B *Giardia duodenalis* u detí do 14 rokov veku na Slovensku a asembláží C, F *Giardia duodenalis* u psov a mačiek na Slovensku.

Na území východného Slovenska sa prvýkrát potvrdil výskyt dosiaľ nediagnostikovaných druhov pakomárikov a to: *C. picturatus*, *C. gejjelensis*, *C. clastrieri*, *C. griseidorsum*, *C. odiatus* a bol objavený nový druh pakomárika, ktorý bol pomenovaný ako: *Culicoides bysta*.

#### Charakterizácia genómov vírusov

V tejto oblasti sa dosiahlo viacero prioritných a unikátnych výsledkov ako sú:

- Objav unikátneho polymorfizmu dĺžky ORF7 časti genómu u izolátu vírusu prasacieho respiračného a reprodukčného syndrómu PRRSV zo Slovenska
- Charakterizácia genómu prvého izolátu BDV zo Slovenska
- Prioritná identifikácia kuracieho astrovírusu a netopierieho astrovírusu u diviakov
- Celogenómová analýza štyroch izolátov WNV z mozgov dravcov uhynutých počas klinického štádia horúčky Západného Nílu. Pri analýze sa odhalili dve unikátne aminokyselinové zámenny, ktoré boli prítomné len u kmeňa WNV línie VII izolovaného z kliešťa v Senegale.

Prepracovali sa metódy molekulovej epidemiológie/epizootológie v boji so zoonózami a závažnými infekčnými nákazami:

- Metódy molekulovej epizootológie sa aplikovali pri riešení problémov s BVD/MD na farmách hovädzieho dobytku
- Na Slovensku a v centrálno-európskom regióne sa vykonala genetická typizácia vírusov BVDV, BDV, PRRSV, prasacieho kobuvírusu, sapovírusu, astrovírusu.



### *Štúdium diferenciálnej expresie génov a syntéza proteínov v infikovaných bunkách*

- Porovnanie analýzy expresie génov v MDBK bunkách infikovaných s BVDV metódami genomiky (microarray) a proteomiky (MALDI-TOF/MS spektrometria) s výsledkom korelácie najvýznamnejších génov zúčastnených pri odpovedi na vírusovú infekciu.

### *Štúdium epitopov pre dôležité infekčné agensy*

- Identifikovali sa B-lymfocytárne epitopy povrchového proteínu OpsC *Borrelia burgdorferi*, ktoré môžu byť použité ako vo vývoji vakcín tak aj detekčných setov
- Syntetizovala sa expresná kazeta pre jednoduchý ribozomálny displej pre výrobu mRNA-ribozóm-VHH. komplexov
- Pomocou fágového displeja boli produkované peptidy voči multirezistentnej *Listeria monocytogenes*.

### *Vypracovanie účinných metód potencovania špecifickej a nešpecifickej imunitnej odpovede u ľudí a zvierat na báze probiotík*

- Vypracovala sa a zaviedla metodika na prípravu optimálneho naturálneho skeletu pre solid state fermentáciu a tvorbu biofilmov prospešných baktérií pre potreby vývoja nových aplikačných foriem probiotík
- Pre prevenciu moru včelieho plodu a zvýšenie obranyschopnosti včelstva bol vyvinutý probiotický prípravok
- V rámci štúdií vzájomných interakcií prirodzenej mikroflóry a patogénnych baktérií a fyziológie tráviaceho traktu bol navrhnutý animálny model myši s redukovanou a kontrolovanou mikroflórou
- Izolovali sa a charakterizovali probiotické kmene a prirodzené inokulanty produkujúce exopolysacharidy určené na harmonizáciu mikrobiocenózy čreva a kože, ktoré boli uložené v zbierke mikroorganizmov podľa Budapeštianskej konvencie pre účely patentového konania (CCM 8617 *Lactobacillus reuteri* L2/6 BiocenoITM, CCM 8616 *Lactobacillus reuteri* L26 BiocenoITM, CCM 8628 *Kocuria kristinae* BiocenoITM)
- Boli izolované a charakterizované probiotické autochtónne kmene pre následné použitie vo veterinárnej medicíne: včelí izolát (CCM 8618 *Lactobacillus brevis* B50)



BiocenoITM) a izoláty zo pstruhov: (CCM 8674 *Lactobacillus plantarum* R2 BiocenoITM, CCM 8675 *Lactobacillus fermentum* R3 BiocenoITM)

- V oblasti vývoja vakcín bola vyvinutá adjuvantná vakcína proti besnote v jednom kroku a bola pripravená adjuvantná formulácia vhodná a účinná aj pre mukozálne použitie v kombinácii s antirabickou vakcínou.

Medzi významné prínosy projektu Medipark na UVLF je možné zaradiť 18 publikácií v impaktovaných časopisoch, celkovo 78 vedeckých a odborných publikačných výstupov, 4 postdoktorandov financovaných z Mediparku, ktorí boli úspešní pri získaní projektov VEGA ako aj 5 nových doktorandov pracujúcich na projektoch. V rámci činnosti UVP vznikol 1 projekt H2020, 1 Vyšehradský projekt, 6 projektov APVV, 13 projektov VEGA a 7 projektov Internej grantovej agentúry UVLF. V rámci transferu poznatkov boli podané 3 patentové prihlášky (PP ) a 1 prihláška úžitkového vzoru (PUV): PP 50050-2016: Probiotický prípravok, spôsob jeho prípravy a použitia vo veterinárnej a humánnej medicíne, PP 50081-2016: Probiotický prípravok pre včely a jeho použitie, PP 2016-006-S01: Expresná kazeta pre tvorbu ribozómového komplexu a PUV 50129-2016: Nosič probiotického prípravku pre včely.

Doterajšie výsledky vedecko-výskumnej činnosti v rámci projektu Medipark a široko rozvinutá výskumno-vývojová činnosť na UVLF na báze vedeckých projektov poukazujú na úzke prepojenie humánnej a veterinárnej medicíny ale aj prírodovedných a technických odborov v rámci jednotného cieľa „Jeden svet, jedno zdravie“.

## Literatúra

1. Vilček Š.: Genetický corpus delicti vírusov, DNA Day, UPJŠ Košice, 25.4.2018
2. Bhide M.: From DNA to Protein, DNA Day, UPJŠ Košice, 25.4.2018
3. Korytár Ľ., Csank T., Pošiváková T., Pavurová P.: Sérologický monitoring West Nile vírusovej infekcie u spevavcov Drienovskej mokrade. X. ročník Interaktívnej Konferencie Mladých Vedcov Preveda: ocenený príspevok „TOP 4“, Bratislava, 6. 6. 2018
4. Výstup v RTVS: <https://slovensko.rtvs.sk/clanky/vzdelavanie/166607/konferencia-mladych-vedcov>



5. Článok na portáli "Veda na dosah": <http://vedanadosah.cvtisr.sk/10-rokov-interaktivnej-konferencie-preveda-par-excellence>
6. Mudroňová a kol.: Probiotický prípravok pre včely na peľovom nosiči. Konferencia UVP Technikom, 22.5.2018
7. Nemcová a kol.: Probiotický prípravok stabilizovaný na alginite. Konferencia UVP Technikom, 22.5.2018
8. Vilček Š.: Metódy molekulovej epidemiológie/epizootológie pomáhajú pri analýze ohnisk vírusových nákaz. Konferencia UVP Technikom, 22.5.2018
9. Pistl J.: Medipark ako koncept „one health“ – prepojenie humánnej a veterinárnej medicíny. Vedecká konferencia: UVP Medipark– prítomnosť a vízie pre výskum a transfer. Centrum interdisciplinárnych biovied, Košice, 25.6.2018



## Neurovedný výskum v Mediparku – súčasnosť a perspektívy

*Nadežda Lukáčová, Ján Gálik*

*Neurobiologický ústav Biomedicínskeho centra Slovenskej akadémie vied*

**Kľúčové slová:** ischemia mozgu, trauma miechy, neurogenéza

V súčasnej dobe sa viac ako inokedy kladie dôraz na prenos výsledkov základného výskumu do aplikačnej sféry. Aplikácia výsledkov neurovedne orientovaného výskumu si zákonite vyžaduje úzke prepojenie interdisciplinárne orientovaných výskumných tímov – neurobiológov, morfológov, biológov, biochemikov a biofyzičtov s lekármi z neurochirurgických a neurologických kliník, s traumatológmi a veterinárnymi lekármi. Z toho dôvodu má účasť NbÚ BMC SAV v MediParku, ktorý prepája špičkové výskumné tímy pôsobiace vo viacerých oblastiach, podstatný význam. V rámci Aktivity 3.3. bola experimentálne riešená problematika akútneho poškodenia CNS. Výskum bol orientovaný na skúmanie mechanizmov poškodenia a regenerácie nervového tkaniva po ischemii (nedokrvení) mozgu, traumatickom poškodení miechy a po periférnych léziách. Časť experimentov bola venovaná štúdiu neurogenézy v dospelom mozgu. Kľúčové výsledky, ktoré uvádzame nižšie (ischemia mozgu, trauma miechy a neurogenéza) spadajú do kategórie možných aplikačných výstupov.

Na ústave bol navrhnutý protokol na prípravu „aktivovanej plazmy“, ktorá ak sa aplikuje zvieratám po experimentálne vyvolanom nedokrvení mozgu, dokáže účinne zabrániť poškodeniu a následnému odumretiu nervových buniek. Spôsob, ako vybudiť v organizme obranné mechanizmy a dostať do plazmy látky s liečivým účinkom sa zakladá na princípe tzv. ischemickej tolerancie. Mierny stres vyvoláva vznik robustnej ochrany proti následnému smrteľnému stresu. Po ischemii mozgu, ku ktorej dochádza napr. v dôsledku mozgových príhod, srdcovo-cievnych príhod, po úrazoch, pri stavoch kedy je potrebné oživovať, odumiera značná populácia neurónov hlavne v tých regiónoch, ktoré reagujú najcitlivejšie na nedostatok prívodu krvi. Nervové bunky, ktoré sú týmto primárnym zásahom poškodené už nezachránime, tie zahynú. Pre nervové tkanivo je omnoho nebezpečnejšie tzv. sekundárne poškodenie, ktoré sa vyvíja v priebehu ďalších dní a spôsobuje veľmi výrazné poškodenie neurónov, ktoré sa nachádzajú v okolí ischemického ložiska. V týchto bunkách sa aktivuje





séria biochemických procesov, ktoré sú rozhodujúce pre sprostredkovanie sekundárnej deštrukcie. Experimentálne sa na našom pracovisku dokázalo, že v priebehu dvoch dní je šanca minimalizovať toto poškodenie a zachrániť bunky, ktoré by boli odsúdené na zánik. A práve minimalizácii sekundárneho poškodenia bol venovaný projekt získaný zo ŠF EÚ a 5 VEGA projektov. Keď bola experimentálnym zvieratám navodená 8 min ischemia tak v najcitlivejšej oblasti mozgu (v tzv. CA1 oblasti hipokampu) odumrelo 50% buniek. Ak sa zvieratám po ischemickom zásahu navodil ďalší stres, bol zaznamenaný iba 5% úhyn. Druhý zásah je možné navodiť od niekoľkých hodín až do dvoch dní. Experimenty v tejto oblasti na úrovni výrazne napredujú. Ocharakterizovanie a identifikácia neuroprotektívnych faktorov cirkulujúcich v krvi kondicionovaných zvierat, podrobný opis dráhy ich produkcie a testovanie ich bioreaktivity a terapeutických vlastností majú potenciál na ich uplatnenie v translačnom výskume.

Druhá kľúčová problematika, ktorá sa skúma na NbÚ BMC SAV je trauma miechy. Po mechanickom poranení sa v mieche ihneď začína rozvíjať primárne poškodenie. Pre túto fázu, ktorá je ireverzibilná, je typické prerušenie nervových dráh, dezintegrácia vaskulatury, hemorágia a poškodenie bunkových membrán. Nastupuje výrazná zápalová reakcia, vyvíja sa lokálny edém. Primárne poškodenie veľmi rýchle prerastá do ischemie, a tak sa v priebehu ďalších 2 dní aktivuje séria biochemických procesov rozhodujúcich pre sprostredkovanie sekundárnej deštrukcie, ktorá vedie k nenávratnej strate postihnutej časti tkaniva. V epicentre lézie sa vytvára kavita, dochádza k degenerácii axónov, ktoré sú morfológicky nepoškodené. Súčasná literatúra uvádza, že sekundárne poškodenie je spôsobené súhrou až 25 patologických mechanizmov. Naším cieľom je obnova neurónových spojení. Na úrovni sa táto problematika rieši v rámci APVV a VEGA projektov, zameraných na moduláciu zápalovej aktivity, blokovanie inhibičných molekúl, premostenie kavity biomateriálmi, stimuláciu rastových faktorov, transplantáciu, elektrostimuláciu. Napriek výraznému pokroku vo vývoji nových terapeutických postupov, ktoré vedú k zlepšeniu funkčného stavu po poranení miechy u malých laboratórných zvierat, sa doteraz nepodarilo vyvinúť účinný liečebný postup u ľudí. Je nevyhnutné naďalej skúmať a vypracovávať optimálne kombinované stratégie, ktoré pomôžu udržať regeneračný potenciál zreých neurónov a úspešnú regeneráciu axónov na malých laboratórných zvieratách a verifikovať účinnosť liečby v predklinických štúdiách. V spolupráci s prof. Martinom Maršalom z Kalifornskej



univerzity v San Diegu, lekármi z Neurochirurgickej kliniky LF UPJŠ a veterinárnymi lekármi z UVLF sa nám podarilo po prvý krát na Slovensku zaviesť vysoko reprodukovateľný a presne okalibrovaný model traumatického poškodenia miechy u miniprasiat, ktorý je vhodný na experimentálne účely v predklinických štúdiách. Poranenie miechy bolo navodené počítačovo-riadeným kompresným zariadením. Experimentálnym zvieratám bola aplikovaná hypotermia miechy. Z výsledkov štúdie vyplýva odporúčanie, aby v prípade nestabilných zlomenín chrbtice spojených s traumatickým poškodením miechy pri ktorých je indikovaná stabilizačná operácia, sa v priebehu chirurgického výkonu realizovalo chladenie medulla spinalis ľadovým fyziologickým roztokom. Z dlhodobého hľadiska je žiadúce vybudovať v Košiciach pracovisko za účelom predklinického testovania. Jednou z progresívnych metód, ktorá by mohla nájsť uplatnenie v klinike, je génová terapia. Efektívne využitie génovej in vivo manipulácie v CNS je limitované klinicky dostupnými spôsobmi ich aplikácie (intravenózne, intratekálne). Štúdie ukazujú, že vnútorný obal miechy (cievnatka) bráni účinnej penetrácii intratekálne podaného adenovírusu do spinálneho parenchýmu. Z toho dôvodu bola vyvinutá nová subpiálna technika, ktorá umožňuje rozsiahlu transgennú expresiu AAV9 v neurónoch, gliových bunkách a endotelových bunkách. Táto technika môže byť využívaná aj v predklinických a klinických štúdiách na reguláciu aktivity sledovaného génu v špecifických segmentoch miechy, alebo v motorických a senzorických axónoch.

Tretia oblasť, ktorá sa intenzívne skúma na našom pracovisku je neurogenéza v dospelom mozgu laboratórnych zvierat. Za posledné dve desaťročia sa získalo veľké množstvo údajov o anatomickej organizácii, funkčnej regulácii a integrácii novovzniknutých neurónov v hlavných neurogénnych oblastiach mozgu (subventrikulárna zóna a subgranulárna zóna). Experimentálne sa dokázalo, že jednotlivé procesy neurogenézy môžu byť významne ovplyvnené rôznymi exogénnymi faktormi (ako je stres a rôzne typy žiarenia), ktoré môžu hrať dôležitú úlohu aj v rozvoji neurodegeneratívnych ochorení. Bolo dokázané, že porucha čuchu zohráva dôležitú úlohu vo včasnej diagnostike neurodegeneratívnych ochorení, ako je Parkinsonova a Alzheimerova choroba, ALS, Huntingtonova choroba, ako aj psychiatrických porúch ako je depresia, úzkosť alebo schizofrénia. V kooperácii s Neurologickou klinikou LF UPJŠ je v prípravnej fáze vytvorenie experimentálneho a klinického pracoviska pre výskum čuchu. Cieľom je štúdium vzťahov medzi špecifickými zmenami v dospeljej neurogenéze a včasnými symptómami niektorých neurodegeneratívnych ochorení, ktoré môžu byť kľúčom



k lepšiemu pochopeniu úlohy postnatálnej neurogenézy v patogenéze neurodegeneratívnych ochorení.



## **Medipark a ECRIN - štartuje SLOVACRIN !**

*Daniel Pella, Ján Rosocha, Jozef Gonsorčík, Peter Jarčuška, Pavol Jarčuška, Pavol, 2Beáta Čečetková, Ján Fedáčko, Martin, Janičko, Štefan Tóth*

*Univerzita Pavla Jozefa Šafárika v Košiciach, TWMA, Průhonice*

**Kľúčové slová:** ECRIN, SLOVACRIN, klinické štúdie, medicínsky výskum

V úradnom vestníku Európskej únie zo dňa 5.12.2013 bolo zverejnené Vykonávacie rozhodnutie komisie z 29.11.2013 o zriadení Európskej siete infraštruktúry klinického výskumu (ECRIN) ako konzorcia pre európsku výskumnú infraštruktúru (ECRIN-ERIC).

ECRIN je non-profitovou organizáciou podporujúcou realizáciu medzinárodných klinických štúdií v Európe. Svoje sídlo má v Paríži, spolupracuje s európskymi korešpondentmi v celej Európe s národnými sieťami centier pre klinické štúdie a s mnohými európskymi a medzinárodnými partnermi v podnikaní („stakeholders“).

Hlavnou misiou ECRINu je podpora krajín vo vytváraní možností pre implementáciu medzinárodných multicentrických klinických štúdií. Členstvo v organizácii ECRIN prináša mnoho výhod:

- plný prístup ku manažérskym a konzultačným službám, ktoré ECRIN poskytuje,
- možnosti spolupráce, širší prístup ku databázam vhodných pacientov pre klinické štúdie,
- spoločné využitie zdrojov pre výskum v týchto medzinárodných projektoch,
- prístup ku expertným databázam a vybaveniu v mnohých centrách,
- podporu a pomoc pri administratívnych a regulačných procesoch,
- podporu pri spracovaní žiadostí o finančnú podporu (krytie, granty).

V súčasnosti sú členmi združenia ECRIN Nemecko, Španielsko, Francúzsko, Maďarsko, Taliansko, Nórsko, Portugalsko a Česká republika. Medzi pozorovateľmi sú Švajčiarsko a od júna 2018 aj Slovenská republika.

Slovenská republika využila skúsenosti z Českej republiky, kde už 4. rok existuje CZECHRIN a úspešne predložila svoju žiadosť do Paríža združeniu ECRIN prostredníctvom Ministerstva zdravotníctva SR. Vedeckým reprezentantom zodpovedným za vybudovanie siete SLOVACRIN sa stala UPJŠ Lekárska fakulta v Košiciach a riaditeľom, ktorý úspešne



odprezentoval žiadosť Slovenska na Medzinárodnom klinickom dni v máji 2018 v Budapešti, sa stal prof. MUDr. Daniel Pella, PhD., ktorý bol zároveň poverený ministerkou zdravotníctva usporiadaním iniciačného mítingu SLOVACRINu ( pozn. 11.sept. 2018 v Bratislave) a vybudovaním infraštruktúry SLOVACRINu v SR.

Každý národný partner ECRINu predstavuje národnú výskumnú sieť infraštruktúry podporujúcej akademický klinický výskum. Predovšetkým poskytuje:

výskumnú, znalostnú, metodologickú a administratívnu podporu pre tzv. IICT (Investigator Initiated Clinical Trials),

a vytvára vhodné prostredie pre národný a medzinárodný klinický výskum a kooperáciu zameranú na prospech pacientov, obyvateľov i poskytovateľov zdravotnej starostlivosti.

Mimoriadne atraktívnou je oblasť získavania medzinárodných výskumných grantov či už ako spoluriešitelia, alebo ako hlavní riešitelia projektov v rámci HORIZON 2020, IMI (Innovative Medicines Initiative) a v oblasti vzácnych chorôb tzv. E-Rare-Calls.

Univerzita Pavla Jozefa Šafárika v Košiciach predstavuje veľmi vhodnú základňu pre ECRIN na Slovensku aj v zmysle už existujúcej medicínskej, biomedicínskej a interdisciplinárnej kooperácie v rámci viacerých úspešných univerzitných aj medziuniverzitných projektov v meste Košice.

V septembri po iniciačnom mítingu ECRIN bude odovzdaný do prevádzky projekt Medipark, ktorý by do budúcnosti mohol slúžiť ako efektívne prepojenie výskumu nielen na území mesta Košíc (čo už reálne existuje), ale na území celej Slovenskej republiky.

Hlavnými oblasťami klinického výskumu v Mediparku sú kardiovaskulárne a metabolické ochorenia (najmä diabetes mellitus), neurovedy, onkológia, regeneračná a preventívna medicína.

Tieto ochorenia sa prekrývajú aj s kľúčovými cieľmi EÚ pre nadchádzajúce desaťročia v oblasti klinického výskumu.

Hlavným cieľom pre najbližšie obdobie je vytvoriť na Slovensku výskumnú sieť založenú na spolupráci všetkých lekárskejších fakúlt v SR, pochopiteľne s tým súvisí sieť špičkových výskumných pracovísk v univerzitných nemocniciach, kardioustavoch, onkoústavoch, prípadne aj v ďalších vysokošpecializovaných zariadeniach. Je však potrebné zdôrazniť, že v úvodných rokoch nie je cieľom kvantita, ale vysoká kvalita. Len tá môže predstavovať vstupenku SR do spoločenstva elitných výskumných pracovísk v Európe.



## **Transfer technológií v TIP a na UPJŠ**

JUDr. Renáta Bačárová, PhD., LL.M.

*UPJŠ v Košiciach, Právnická fakulta*

**Kľúčové slová:** transfer technológií, ochrana duševného vlastníctva, start-up, spin-off

Príspevok je zameraný na predstavenie činnosti Úseku pre transfer výsledkov výskumu a know-how do praxe (ďalej aj „ÚpT“ alebo „Úsek“) na Univerzite Pavla Jozefa Šafárika v Košiciach (ďalej aj „UPJŠ“) od jeho vzniku po súčasnosť. Následne približuje zmeny v jeho fungovaní v kontexte transformácie v rámci Technologického a inovačného parku UPJŠ v Košiciach (ďalej aj „TIP-UPJŠ“).

### **Východiská súčasného fungovania transferu technológií a ochrany duševného vlastníctva**

Ochrana duševného vlastníctva (ďalej aj „DV“) a transferové aktivity na UPJŠ v Košiciach boli od počiatku realizované prostredníctvom Úseku pre transfer výsledkov výskumu a know-how do praxe, ktorý bol zriadený v júni 2013 na základe smernice č. 1/2013 o ochrane duševného vlastníctva na UPJŠ v Košiciach (ďalej „Smernica o ochrane DV“) prijatej v máji 2013. ÚpT bol v štruktúre univerzity zaradený pod Rektorát UPJŠ.

V rámci ochrany DV základná činnosť ÚpT smeruje k poskytovaniu konzultácií a poradenstva pri výbere najvhodnejšieho spôsobu ochrany predmetov priemyselného vlastníctva, najmä riešení, ktoré je možné chrániť patentom alebo úžitkovým vzorom.

V oblasti transferu je potrebné vyzdvihnúť činnosť Úseku pri vymedzení rámcových pravidiel fungovania start-up a spin-off spoločností na UPJŠ, ako aj aktivity pri poskytovaní komplexných služieb spojených s ich zakladaním a fungovaním. Využívanie obchodných spoločností sa tak stalo základným nástrojom na realizáciu transferových zámerov UPJŠ. V súlade s touto politikou, UPJŠ ako jediný spoločník založila najskôr spoločnosť SAFTRA, s.r.o., ktorá zastrešuje transferové aktivity za účelom čo najefektívnejšej komercializácie duševného vlastníctva. Následne SAFTRA, s.r.o. založila dcérske spoločnosti SAFTRA photonics, s.r.o. v roku 2015 (k odčleneniu došlo v roku 2018), SAFTRA IMAGINE, s.r.o. v roku 2016 a SAFTRA 3D mapping, s.r.o. v roku 2017. Osobitosť spoločnosti SAFTRA



IMAGINE, s.r.o. spočíva v tom, že bola zriadená explicitne za účelom komercializácie novovytvoreného duševného vlastníctva UPJŠ a pôvodcov.

O význame a opodstatnenosti existencie ÚpT svedčí nielen množstvo zrealizovaných konzultácií a poradenská činnosť spojená s ochranou duševného vlastníctva UPJŠ, ale aj pomoc pri podávaní najmä patentových prihlášok a prihlášok úžitkových vzorov, a to tak na národnej, európskej, ako aj medzinárodnej úrovni. Pri zabezpečení ochrany DV využíva UPJŠ rešeršné a iné odborné konzultačné služby poskytované Centrom vedecko-technických informácií SR (ďalej aj „CVTI SR“). Úsek tu plní úlohy odborného kontaktného miesta pre komunikáciu s pracovníkmi CVTI SR.

Z edukatívnych činností je potrebné spomenúť účasť zástupcov ÚpT na rôznych konferenciách týkajúcich sa transferu a ochrany DV. V tomto smere je už etablovanou akciou Konferencia NITT SK, ktorú každoročne organizuje CVTI SR, a ktorá predstavuje vhodnú platformu pre výmenu skúseností medzi vedecko-výskumnými organizáciami doma aj v zahraničí. Za zmienku stojí aj participácia UPJŠ, prostredníctvom zástupcov ÚpT, na vytváraní Národnej stratégie ochrany DV na Slovensku v spolupráci so Svetovou organizáciou duševného vlastníctva (WIPO).

Významným počinom v oblasti spolupráce pri transfere technológií na inštitucionálnej úrovni bolo založenie Národného centra transferu technológií SR (ďalej „NCTT SR“). UPJŠ sa týmto stala súčasťou národného programu podpory transferu technológií a ochrany duševného vlastníctva na Slovensku. Za obzvlášť pozitívne je potrebné hodnotiť zriadenie Patentového fondu pri NCTT SR, z ktorého je možné finančne podporiť podávanie patentových a iných prihlášok členmi NCTT SR. Z uvedených prostriedkov boli financované aj viaceré prihlášky pôvodcov z UPJŠ. Prax však ukázala, že peňažné zdroje pre podporu a udržateľnosť predmetov DV je potrebné diverzifikovať. Vytvorenie osobitného fondu na financovanie ochrany duševného vlastníctva na UPJŠ možno preto označiť za jednu najaktuálnejších výziev pri nastavení dlhodobého horizontu fungovania transferu technológií na UPJŠ. Bez toho nie je možné úspešne pokračovať v ochrane DV na UPJŠ a zabezpečiť trvalú udržateľnosť tejto ochrany.

Dôkazom toho, že Úsek si od svojho vzniku dôsledne plní určené úlohy, sú významné ocenenia technológií, ktoré boli prihlásené k priemyselno-právnej ochrane, pričom pracovníci Úseku poskytli odbornú pomoc najmä v otázkach voľby spôsobu ochrany DV. V roku 2015



získala podporená technológia Kmene mikroorganizmov *Lactobacillus Plantarum* LS/07 CCM 7766 a spôsob ich využitia ocenenie v kategórii Inovácia s najväčším potenciálom pre uplatnenie v praxi, kde ÚpT participoval pri podaní národnej patentovej prihlášky a PCT prihlášky. O dva roky neskôr, v roku 2017, získalo riešenie s názvom Kontrastovacia zmes a jej využitie ocenenie v kategórii Inovácia, pričom ÚpT poskytoval súčinnosť pri podaní národnej patentovej prihlášky a prihlášky úžitkového vzoru, ako aj PCT prihlášky. Uvedenými aktivitami ÚpT nemalou mierou prispel aj k propagácii UPJŠ nielen medzi laickou, ale najmä odbornou verejnosťou.

### **Zmeny vo fungovaní transferu technológií a v ochrane duševného vlastníctva**

Významnou zmenou vo fungovaní Úseku bolo zriadenie Technologického a inovačného parku UPJŠ v Košiciach ako špecializovaného výskumného a vývojového pracoviska na základe rozhodnutia rektora č. 12/2017, s účinnosťou od 1.9.2017. Vo vnútornej organizácii Rektorátu UPJŠ bol zrušený ÚpT a všetky činnosti Úseku prešli do pôsobnosti TIP-UPJŠ.

V súvislosti s uvedenou zmenou sa vynorili viaceré otázky spojené so zachovaním kontinuity doterajšieho fungovania, najmä pôsobenie Úseku v rámci svojej kompetencie aj pre centrá, vedeckých pracovníkov, pôvodcov a ďalšie subjekty pôsobiace na UPJŠ, ktoré nie sú zaradené v TIP-UPJŠ, ale potrebujú poradenstvo v tejto oblasti. Plnenie celouniverzitných úloh ÚpT v rámci poradenstva a pomoci, ako aj konzultácie vo veciach ochrany DV a možnostiach komercializácie považujeme za kľúčové pre efektívne fungovanie ochrany výsledkov vedy a výskumu na UPJŠ.

Realizácia nových úloh ÚpT v rámci TIP-UPJŠ si vyžiada aj personálne posilnenie Úseku, pričom jeho vedúcemu by mali byť k dispozícii ďalší špecialisti najmä na právne a technické otázky ochrany DV a komercializácie, ako aj špecialisti na správu a administráciu DV. Z hľadiska samotného transferu považujeme za jednu z kľúčových pozícií v TIP-UPJŠ aj činnosť špecialistu pre komercializáciu.

Koncentrácia odborníkov na oblasť ochrany DV a transferu technológií v ÚpT, ako aj centralizovanie procesov v TIP-UPJŠ by mohlo smerovať k zníženiu nákladov na zabezpečenie ochrany DV tým, že sa spoja právne služby, zabezpečí sa vzdelávanie a stabilizácia kvalifikovaných odborníkov, využijú sa vytvorené dokumenty a zabehnuté postupy na riešenie konkrétnych prípadov. Výhodou poskytovania služieb ÚpT na centrálnej





úrovni UPJŠ je, že umožní získať komplexný prehľad o výskumných aktivitách na univerzite a efektívne ho využiť napr. pri vyhľadávaní a zapojení nových projektov do TIP-UPJŠ v rámci tzv. free zóny.

Z formálneho hľadiska navrhujeme zmenu názvu ÚpT tak, aby korešpondoval s označením centier etablovaných v TIP-UPJŠ. Z praktických dôvodov známosti označenia medzi odbornou aj laickou verejnosťou, ako aj v kontexte pojmov používaných v Organizačnej štruktúre TIP-UPJŠ navrhujeme názov „Centrum transferu technológií a duševného vlastníctva“.

### **Nové úlohy v oblasti transferu technológií a ochrany duševného vlastníctva**

Kreovanie TIP-UPJŠ vytvorilo priestor na zmenu aj vo fungovaní ÚpT. Medzi základné činnosti Úseku aj naďalej patrí ochrana a spravovanie DV, v rámci ktorých sa poskytuje poradenstvo, pomoc a rôzne konzultácie v oblasti DV, ako aj koordinácia a poradenstvo pri zakladaní a fungovaní start-up a spin-off spoločností na UPJŠ. Vízie do budúcnosti smerujú najmä k posilneniu edukatívnej pôsobnosti ÚpT, čo by mohlo prispieť k väčšej informovanosti vedecko-výskumných pracovníkov najmä v oblasti ochrany DV a možnostiach následnej komercializácie.

Prioritou naďalej ostáva pôsobnosť ÚpT v rámci svojej kompetencie pre celú UPJŠ.

Za kľúčové z hľadiska budúcej udržateľnosti považujeme zriadenie fondu na financovanie ochrany DV a transferových aktivít UPJŠ.

Keďže doteraz sa iba v minimálnej miere využíval potenciál SAFTRA, s.r.o, ktorý mal byť spojený najmä s komerčnými aktivitami UPJŠ, do budúcnosti bude potrebné podporiť činnosti smerujúce k väčšiemu vyťaženiu obchodných možností tohto subjektu.

Úlohy, ktoré na ÚpT čakajú v najbližšom období by mali byť zamerané na zmenu Smernice o ochrane DV v dôsledku legislatívnych zmien, vypracovanie a zavedenie centrálného elektronického systému registrácie a správy duševného vlastníctva na UPJŠ s vytvorením webového rozhrania na nahlasovanie predmetov DV, vypracovanie štandardov bezpečnosti citlivých údajov (vrátane osobných údajov) a plánu vzdelávania pracovníkov ÚpT. Z dlhodobého hľadiska a s narastaním významu ÚpT možno očakávať jeho personálne posilňovanie, vybudovanie knižného fondu v oblasti transferu technológií a ochrany DV, pokračovanie v nadväzovaní spolupráce doma aj v zahraničí s externými organizáciami



a inými centrami pre transfer technológií, vydávanie newslettera s ponukou technológií a licencií, nadväzovanie spolupráce s priemyselnou a hospodárskou sférou so záujmom pre transfer.

## Literatúra

1. VAJDA, Viliam Prečo startupy zlyhávajú In *Startup 4 Dummies*. Bratislava: Digitalvisions, s. 21-24.
2. SCHWARTZ, David *The Tech Transfer Library: Start-up Strategies*. Atlanta: 2Market Information.



## UVP MEDIPARK - CESTA K INOVÁCIÁM VO VÝSKUME, DIAGNOSTIKE A LIEČBE

Zborník prednášok z tematických konferencií usporiadaných UVP MediPark

Zostavovatelia zborníka: prof. MUDr. Pavol Jarčuška, PhD., UPJŠ v Košiciach

prof. MUDr. Daniel Pella, PhD., UPJŠ v Košiciach

MVDr. Ján Rosocha, CSc., UPJŠ v Košiciach

Recenzenti: RNDr. Andrej Miroššay, PhD., UPJŠ v Košiciach

MUDr. Martin Novotný, PhD., UPJŠ v Košiciach

Vydavateľ: Univerzita Pavla Jozefa Šafárika v Košiciach,

Miesto vydania: Košice

Rok vydania: 2018

Náklad: 200 ks

Rozsah strán: 46

Vydanie: prvé

Účelová publikácia, nepredajná.

ISBN: 978-80-8152-617-6