

**Oponentský posudek pro obhajobu disertační práce Mgr. Barbory Heřmánkové
„Mechanismy imunomodulačního působení kmenových buněk a jejich využití k léčbě
onemocnění oka“**

Předložená disertační práce řeší velice aktuální problematiku, týkající se potenciálního využití kmenových buněk, které jsou již relativně dlouhou dobu středem zájmu biomedicínského výzkumu. Náplň této disertační práce do určité míry navazuje na magisterskou práci uchazečky, jejímž cílem bylo přispět k objasnění interakce mezi mezenchymálními kmenovými buňkami (MSC) a imunosupresivou.

Její cíle byly definovány do pěti okruhů: analýza mechanismů imunomodulačního působení MSC na B lymfocyty; stanovení vlivu cytokinů na imunomodulační a diferenciací vlastnosti MSC; studium možností diferenciací MSC na buňky exprimující znaky sítnice; porovnání terapeutického potenciálu mezenchymálních kmenových buněk a limbálních kmenových buněk (LSC); a v neposlední řadě také studium schopnosti MSC jednak produkovat trofické a růstové faktory a na druhé straně inhibovat zánětlivé reakce v sítnici.

Disertační práce vychází ze čtyř publikací, které jsou jejím základem. U dvou z nich je uchazečka prvním autorem (práce o IF 4,247 a 3,562), a u dalších dvou se podílela jak na jejich experimentální části, tak i na zhodnocení a interpretaci výsledků významným způsobem. Tím v tomto směru dostatečně splnila požadavky kladené na disertační práci.

Ostatní části disertační práce propojující publikované výsledky jsou vypracovány v češtině a standardně členěny na kapitoly.

Autorka srozumitelně a přehledně zpracovala literární přehled s odkazy na současný stav problematiky. Je rozdělen do subkapitol, zabývajících se nejprve obecně kmenovými buňkami s hlavním zaměřením na mezenchymální kmenové buňky (MSC), na jejich diferenciací a imunomodulační vlastnosti a vlivem na buňky imunitního systému. Dále se věnuje potenciálním možnostem terapeutického využití MSC se zaměřením na léčbu poškození oční rohovky nebo sítnice. V závěru literárního přehledu autorka sumarizuje dosavadní způsoby aplikace MSC a probíhající klinické studie.

Experimentální část (použité metody a výsledky) tvoří čtyři publikace v impaktovaných časopisech, uvedené jednotlivě českými souhrny. Z nich vyplývá, že autorka je schopná při experimentální práci rutinně používat řadu náročných technik (separace a kultivace MSC, separace a kultivace B buněk, kultivace sítnic, cytometrická analýza, real time PCR atd.). Dále prokázala dobrou schopnost analyzovat výsledky a připravit je do finální publikace.

K nejdůležitějším poznatkům řadím do detailu zpracovanou analýzu regulace produkce IL-10 mezenchymálními kmenovými buňkami pomocí IFN gama a identifikaci jeho klíčové

role v diferenciaci MSC na buňky exprimující znaky sítnice na straně jedné, a stejně tak i in vivo výsledky pokusů modelujících klinickou situaci při regeneraci poškozeného povrchu oka.

Protože subkapitoly diskuse jsou již součástí publikací, kapitola Diskuse je zaměřena tak, aby dala do souvislostí výsledky získané během řešení celého projektu.

Disertační práce je doplněna jedenácti stranami relevantních citací.

K práci mám tyto připomínky a dotazy:

- Autorka studovala mechanismus imunomodulačního působení MSC ovlivněných IFN gama na snížení produkce IL-10 in vitro. Jakým způsobem by se mohl mít tento poznatek uplatnit při in vivo experimentech? Mám na mysli jaký koktejl cytokinů a schéma jejich podání za účelem modulace prozánětlivého a protizánětlivého prostředí pro dosažení co nejlepší diferenciaci MSC na buňky exprimující žádané znaky.
- Kmenové buňky, přes již překonanou počáteční euforii, stále patří ke slibným kandidátům pro použití v regenerativní medicíně a buněčné terapii. Je možné, kromě zde studované možnosti jejich využití k léčbě onemocnění oka ukázat i na další perspektivní možnosti pro jejich využití v klinické praxi?
- Zda a jak korelovala regenerace poleptaného povrchu oka pomocí terapeutického využití kmenových buněk a reálná schopnost vidět na postižené oko?

Závěrem je možné konstatovat, že autorka ve své disertační práci prokázala schopnost samostatné tvůrčí práce v oboru. Kromě čtyř impaktovaných publikací, které se staly podkladem předkládané disertační práce, je spoluautorkou dalších šesti impaktovaných publikací a autorkou nebo spoluautorkou několika kapitol v odborných knihách.

Práce splňuje požadavky standardně kladené na disertační práce, a proto práci doporučuji k obhajobě před příslušnou komisí pro obhajobu disertační práce.

RNDr. Marie Indrová, CSc.

Praha, 7. 9. 2018