
Oponentský posudek na diplomovou práci

Autor práce: **Bc. Filip Jabůrek**

Název práce: **Studium vlivu mezenchymálních kmenových buněk v kombinaci s imunosupresivní terapií na zánětlivou odpověď v *in vivo* modelu**

Školitel: **Doc. RNDr. Magdaléna Krulová, Ph.D.**

Oponent: **Mgr. Tomáš Brdička, Ph.D.**

Datum: 4.9.2019

Základem předkládané práce je soubor experimentů testujících možnosti imunosuprese pomocí kombinace Cyklosporinu A a mezenchymálních kmenových buněk (MSC) na myším modelu alogenní transplantace splenocytů. Práce se tak snaží prověřit možnosti využití mezenchymálních kmenových buněk při podpoře imunosupresivní léčby po transplantacích. Dochází k závěru, že v použitém modelu MSC posilují protizánětlivé procesy a mají tedy potenciál pro terapeutické využití.

Po krátkém úvodu a definici cílů práce následuje velmi dobře zpracovaný přehled literatury. Popisuje jakým způsobem jsou definovány mezenchymální kmenové buňky a podává velmi podrobný přehled jejich imunomodulačních vlastností, jejich vlivu na jednotlivé populace leukocytů a využití v terapii. Všechna témata jsou relevantní pro výsledkovou část a cíle práce. Text je srozumitelný a použitá literatura správně citována.

Metodická část je velmi podrobně zpracována, a svědčí o autorově porozumění použitým metodám. Experimentální postupy uplatněné v této práci jsou poměrně náročné, nicméně práce dokládá jejich zvládnutí na potřebné úrovni.

Výsledková část je poměrně rozsáhlá a většina výsledků je velmi dobré kvality, zejména s ohledem na relativní obtížnost práce se zvířaty. Statistické vyhodnocení experimentů je také na velmi dobré úrovni. V některých případech se ovšem zdá, že experimentální skupiny byly příliš malé pro jednoznačné určení statistické významnosti. I přes to lze však konstatovat, že výsledky jsou v souladu se závěry práce.

Diskuse je zpracována velmi dobře. Je přiměřeného rozsahu a svědčí o orientaci autora v řešené problematice. Jejím těžištěm je porovnání získaných výsledků s dostupnou literaturou. Ve srovnání s tím je poměrně málo prostoru věnováno interpretaci výsledků a zhodnocení limitací. Nejde však o závažný nedostatek, ale spíše o prostor pro další zlepšení.

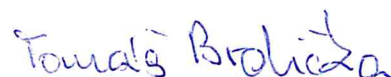
Po jazykové stránce je práce zdařilá s nevýznamným množstvím chyb a překlepů.

Celkově práce působí velmi dobrým dojmem. Obsahuje velké množství originálních výsledků a po formální stránce je kvalitně zpracována. Lze tedy shrnout, že autor prokázal teoretické i praktické zvládnutí zpracovávané problematiky a splnil cíle práce. **Tato práce dle mého názoru splňuje požadavky na diplomovou práci a doporučuji ji k přijetí.**

Kritické připomínky a dotazy do diskuse:

1. V úvodu práce popisujete celou řadu imunomodulačních efektů MSC. Jak je to s endogenními MSC? Je něco známo o tom, jakou imunologickou roli má jejich endogenní přítomnost v nijak neovlivněném organismu?
2. V literárním přehledu uvádíte, že možným terapeutickým použitím MSC je aplikace kondiciovaného média z jejich *in vitro* kultur. Jaká je reálná šance, že by se něco takového mohlo použít v klinické praxi? Existuje pro to nějaký precedens?
3. U kultivačních testů (5.8.) píšete, že pro potřeby měření cytokinů byly buňky kultivovány s inaktivovanými B6 splenocyty a pak s PMA/Ionomycinem. Ověřovali jste, že odpověď buněk je skutečně závislá na antigenu a ne pouze indukovaná pomocí PMA/Ionomycinu? Grafy cytokinové produkce neukazují signifikantní rozdíly mezi buňkami z transplantovaných a netransplantovaných myší, což by svědčilo spíše pro nespecifickou aktivaci nezávislou na antigenu.
4. V metodické části v odstavci 5.10. ELISA uvádíte, že „se jedná o přímý sendvičový ELISA test, kde je koncentrace cytokinu přímo úměrná optické denzitě.“ To platí jen pro určité rozmezí koncentrací stanovovaných cytokinů. Jak jste zjišťoval, že koncentrace stanovovaných cytokinů není mimo rozsah, ve kterém platí ona lineární závislost?
5. V textu chybí odkaz na obrázek 8. Obrázky 9, 10 a 11 jsou v textu pravděpodobně zmiňovány jako obrázky 10, 11, a 12.
6. Alogenní splenocyty byly aplikovány podkožně. Očekával bych, že takovýto způsob podání vyvolá reakci hlavně ve spádových lymfatických uzlinách. Proč jste se v práci rozhodli analyzovat pouze odpovědi splenocytů? Ve většině parametrů jsou rozdíly mezi transplantovanými a netransplantovanými zvířaty nesignifikantní, což ukazuje, že reakce splenocytů na transplantaci byla relativně slabá, pokud k ní vůbec došlo. Máte i nějaká data z lymfatických uzlin. Lze MSC nalézt i v lymfatických uzlinách.
7. Na závěr jedna gramatická drobnost. Nejméně na čtyřech místech v textu jsem našel tvary slova standart s „t“ na konci. Správně je standard s „d“.

V Praze 23.5.2018

A handwritten signature in blue ink that reads 'Tomáš Brdička'.

Tomáš Brdička