



**Ústav
experimentální
medicíny AV ČR, v.v.i.**

EU Centre of Excellence

Oponentský posudek na disertační práci Mgr. Ivana Leontovyče nazvanou „Diferenciace pankreatických kmenových buněk na β-buňky produkující inzulin“

Autor předložil disertační práci založenou na 5 publikacích v časopisech s impakt faktorem, z nich na dvou je Mgr. Leontovyč prvním autorem. Celý soubor prací se zabývá možnostmi přípravy buněk produkujících inzulin, které by byly využitelné pro léčbu metabolického onemocnění diabetes mellitus. Práce byla vypracována na špičkovém pracovišti Centra diabetologie IKEM pod vedením prof. F. Saudka. Jedná se o vysoce aktuální téma, neboť buněčná terapie založená na transplantaci kmenových nebo diferenciovanych buněk může představovat moderní a perspektivní způsob léčby u pacientů s diabetes mellitus.

Těžiště práce je zaměřeno na hledání vhodných buněk a metod pro indukcii produkce inzulinu. Hlavní část experimentů byla provedena využitím buněk potkaní pankreatické exokrinní linie AR421. Autor se zaměřil na pokusy o transdiferenciaci těchto buněk v buňky produkující inzulin (resp. exprimující c-peptid). Za tímto účelem testoval účinky přidávání různých růstových faktorů (jako FGF, EGF, aj.) do kultivačního média, moduloval expresi transkripčních faktorů nebo testoval možnosti ovlivnění buněčné DNA bioaktivními molekulami jako jsou rekombinantní proteiny nebo syntetické RNA. Využitím a kombinacemi těchto molekulárně-biologických metod autor prokázal indukcii produkce inzulinu, i když zatím byla tato produkce prokázána jen u asi 14% buněk a celková produkce byla poměrně nízká (ve srovnání s produkcí inzulinu u buněk ostrůvků pankreatu). Nicméně, použité přístupy ukazují možnosti epigenetické manipulace buněk ke zvýšení sekrece požadovaných molekul.

Disertační práce je standardně členěná, napsaná na 61 stránkách textu a doplněna kopiemi vlastních publikovaných prací. Uvedený přehled literatury ukazuje na dobrou orientaci autora ve světovém písemnictví. Je jen škoda, že žádná z citovaných prací (kromě jedné vlastní) není z posledních 3 let a jen 4 uvedené práce byly publikovány v posledních 5 letech. Takové aktuální téma, jako je diferenciace a transdiferenciace buněk, by si vyžadovalo přehled aktuálního stavu výzkumu v dané oblasti. Práce je kvalitně napsaná s minimálním množstvím



překlepů. Je jen na škodu, že seznam zkratk není uveden na počátku práce, ale objevuje se až na str. 45. Práce je zakončená zhodnocením splnění vytyčených cílů a závěrečným shrnutím.

Mezi drobné formální nedostatky práce patří:

- Nedůsledné využívání zavedených zkratk (např. na str. 9 jsou zavedeny zkratky FGF, EGF, ale později se v textu objevují nezkrácené výrazy pro tyto molekuly a na str. 38 jsou tyto zkratky opět vysvětleny.
- Někde se objevují anglicismy, např. inzulin produkující buňky, česky by mělo být buňky produkující inzulin.
- Název kapitoly na str. 8 je „Lidské buňky pupečnickové krve jako zdroj β -buněk produkujících inzulin“. Přesnější výraz by bylo „jako zdroj buněk produkujících inzulin. Nebudou to β -buňky.
- V seznamu použité literatury je velká většina citovaných časopisů uvedena celým názvem, ale některé citace (např. Chen a Dent 2014, Latchman 1997) jen zkrácenou verzí (vše by mělo být stejným stylem).

Tyto formální nedostatky však nesnižují odbornou kvalitu předložené dizertační práce. Většina výsledků uvedených v předložené práci je součástí přiložených publikací, které jistě prošly náročným recenzním řízením a tak odpovídají požadavkům na odbornou vědeckou kvalitu.

K autorovi mám jen následující dotazy:

1. Přípravované transdiferenciované buňky vykazují jen krátkodobou (několik desítek hodin) produkci inzulinu (resp. expresi c-peptidu nebo transkripčních faktorů). Mohl by autor zhodnotit klinický potenciál takových buněk, zvláště s ohledem na dlouhodobou léčbu?
2. Jako možný zdroj buněk produkujících inzulin autor navrhuje lidskou neendokrinní pankreatickou tkáň, která se získává jako nevyužívaný vedlejší produkt při izolaci Langerhansových ostrůvků. Kdyby se tyto transdiferenciované buňky podávaly pacientům, budou to vždy alogenní buňky. Jakou imunosupresi by autor navrhoval k zajištění přežívání těchto buněk?
3. Po svých zkušenostech (a zkušenostech jejich oddělení), jaké buňky by do budoucna autor považoval jako vhodné pro jejich transdiferenciaci v buňky produkující inzulin?



**Ústav
experimentální
medicíny AV ČR, v.v.i.**

EU Centre of Excellence

Mgr. I. Leontovyč prokázal schopnost samostatné tvůrčí vědecké práce, dosáhl nové poznatky, které byly publikovány v časopisech s impakt faktorem. Tím splnil požadavky na studenta v doktorském studijním programu.

Proto mohu konstatovat, že Mgr. Leontovyč splnil všechny požadavky na vypracování disertační práce, získal nové výsledky, které objektivně a kriticky zhodnotil a diskutoval v předložené práci. Tím prokázal předpoklady k samostatné tvořivé práci a proto doporučuji přijetí předložené disertační práce jako podkladu k udělení titulu „Ph.D.“ za jménem.

V Praze dne 14. 8. 2019.



Prof. RNDr. Vladimír Holář, DrSc.