



UNIVERZITA KARLOVA
I. lékařská fakulta

Oponentský posudek na disertační práci Mgr. Pavly Boháčové

V předložené disertační práci nazvané „Buněčné a molekulární mechanismy imunoregulačního působení kmenových buněk a jejich vliv na buňky adaptivní imunity“ se autorka věnuje buňkám s imunoregulační funkcí. Jedná se velmi aktuální téma řešené v současné medicíně, kdy se snažíme najít další možnosti léčby širokého spektra autoimunitních onemocnění a potlačení nežádoucích reakcí u pacientů po transplantaci.

Disertační práce je psaná v anglickém jazyce na vysoké úrovni. Jen u abstraktu v českém jazyce působí trochu neobratně první věta druhého odstavce. Závěrečná práce má standardní členění s literárním přehledem, cíli práce, seznamem publikovaných prací, výsledky, diskuzí, závěrem a seznamem citovaných prací. V literárním přehledu autorka zasvěceně popisuje jednotlivé subpopulace buněk s imunoregulační funkcí. Zde mám jen dvě připomínky. Jedna se týká Obrázku 2 na str. 25, kde jsou prezentovány NKreg bez dalšího komentáře v textu a zkratka pro interferon má být IFN a ne INF. Druhá připomínka se týká výčtu populací s imunoregulační funkcí, kdy jsem nenašel zmínku of ILCreg (připouštím, že neexistuje příliš literatury o této populaci buněk).

V oddíle „Cíle“ jsou jasně definovány cíle práce, které se podařilo splnit, jak dokumentují práce v následující kapitole „Výsledky“. Výsledky práce byly publikovány v mezinárodních časopisech s impaktovým faktorem. Základ disertační práce představují čtyři publikace, kde je autorka dvakrát první a dvakrát členem autorského kolektivu. Kromě čtyř publikací vztahujících se přímo k tématu disertační práce je Mgr. Pavla Boháčová členkou autorského kolektivu u dalších osmi publikací otištěných v časopisech s i impaktovým faktorem. Dále se autorka podílela na přípravě kapitol v knihách.

Uvedené široké spektrum experimentálních přístupů v jednotlivých publikacích dokládá autorčinu metodickou zručnost, schopnost osvojit si i náročné laboratorní postupy. Zvolené metodické postupy jsou plně v souladu s navrženými experimentálními pokusy a jejich použití vedlo k dosažení vytčených cílů disertační práce.

Práce přináší původní výsledky, které popisují možnosti modulace MSC a slibný potenciál kombinace imunosupresiv spolu s podáváním MSC pro potlačení nežádoucích imunitních reakcí. Tyto výsledky zásadním způsobem posouvají vývoj alternativních léčebných postupů cílících na potlačení neadekvátních imunitních reakcí typických pro zánětlivá onemocnění a pacientů po transplantaci.

Na autorku mám následující otázky:

V první publikaci porovnáváte imunosupresivní potenciál jak samotných imunosupresiv tak kombinací různých imunosupresiv spolu s MSC na proporční a funkční charakteristiky jednotlivých subpopulací CD4⁺ T lymfocytů. Při sečtení proporčního zastoupení Th1 + Th2 + Th17 + Treg se mohu dostat k max 45% (min. cca 15%)? Zajímalo by mě, jaký fenotyp mají ty ostatní „nonTbet nonGATA3 nonRORgt nonFoxP3 CD4⁺ T lymfocyty. Mohla by se tato populace v rámci plasticity CD4⁺ T lymfocytů diferencovat do případných prozánětlivých subpopulací?

Mohly by MSC ovlivňovat i jednotlivé subpopulace ILC?

Předpokládá autorka, že efekt MSC bude spíše založen na přímém buněčném kontaktu či různých látkách sekretovaných MSC včetně extracelulárních vezikulů?

U třetího článku (str. 64 v disertační práci) bych se chtěl zeptat, na základě čeho byl nastaven gate pro FoxP3 pozitivní buňky u Obrázku 2C? Jak vypadá „FMO (fluorescence minus one) kontrola“?

Velmi se mně líbí metodický článek publikovaný v časopise Journal of Immunological Methods, v pořadí čtvrtý. Na stránce 73 (Obrázek 2) jsou dot ploty zobrazující výsledky intracelulárního barvení buněk stimulovaných LPS či ConA s použitím kitů pro permeabilizaci a fixaci od různých firem. Chtěl bych se zeptat, jak vypadá barvení nestimulovaných buněk, neboť právě stimulace může vést k určitým konformačním změnám proteinů vedoucích k odlišné vazebné specifitě jednotlivých klonů protilátek (viz např. metodické články detekující přítomnost transkripčního faktoru FoxP3 publikované Pillai a kol., Blood, 2008; Presicce a kol., Cytometry A, 2010) v tomto případě R-PE? Jak sama autorka uvádí, vazba protilátky konjugované s R-PE byla minimální u nestimulovaných buněk.

Vytčené cíle disertační práce byly ambiciózní a musím s potěšením konstatovat, že se je podařilo úspěšně naplnit. Předložená disertační práce splňuje požadavky kladené na závěrečnou práci doktorského studia. Dizertační práci hodnotím jako velmi zdařilou a jednoznačně doporučuji k přijetí k obhajobě a po jejím úspěšném obhájení udělení akademického titulu „Ph.D.“ za jménem.