

POSUDEK DIPLOMOVÉ PRÁCE MARKÉTY FRÁŇOVÉ

OPONENT: KATEŘINA ROHLENOVÁ

Autorka, Markéta Fráňová, odevzdala diplomovou práci nazvanou “Modulace mitochondriálního přenosu ovlivněním mezenchymálních kmenových buněk”. Práce, vypracovaná v českém jazyce, obsahuje (i) úvod a literární přehled vlastností mezenchymálních kmenových buněk (MSCs), jejich imunomodulační funkce a možností jak podpořit terapeutické využití v léčbě, například stimulací přenosu mitochondrií; (ii) cíle práce; (iii) materiál and metody; (iv) výsledky experimentů zaměřené na charakterizaci MSCs, jejich mitochondrií a přenos mitochondrií z MSCs do imunitních buněk a změny fenotypu imunitních buněk po přijetí mitochondrií z MSCs, (iv) diskuzi. Práce se dobře čte, je srozumitelně napsaná a přehledně členěna do kapitol a podkapitol. Literární úvod je vypracován z obsáhlého množství literatury. Cíle práce a hypotéza jsou jasné. Experimentální část obsahuje velké množství výsledků, které systematicky testují stanovenou hypotézu za pomoci MSCs, vystavených několika různým látkám. Výsledky jsou prezentovány v přehledných grafech a mikroskopických obrázcích. Práce obsahuje obsáhlou diskuzi výsledků v kontextu publikovaných prací.

HODNOCENÍ: Po přečtení práce, s ohledem na kvalitu zpracování výsledků a množství experimentů, doporučuji práci Markéty Fráňové k obhajobě.

Níže najdete moje komentáře a otázky vztahující se k prezentované práci.

1. V přehledu zmiňujete, že pohlaví dárce MSCs je jedním z faktorů, které ovlivňují jejich imunomodulační vlastnosti. Jaké pohlaví myši jste používali pro experimenty? Tato informace by měla být součástí popisu metody. Byly MSCs používané na experimenty izolovány z jedné myši, či jako směs buněk ze skupiny myši? Pozorovali jste rozdíly ve vlastnostech MSCs izolovaných z myších samic/samců?
2. Jak čistá je Vaše kultura mezenchymálních kmenových buněk? Které hlavní kontaminující buněčné typy očekáváte?
3. V přehledu je uvedeno: “Feng a kolegové popisují snížení exprese povrchové molekuly CD90 v MSCs po inhibici Drp1 z čehož vyplývá, že dělení mitochondrií se podílí na udržení kmenovosti MSCs”. Ukazují autoři publikace funkční závislost? Pokud ano, prosím stručně vysvětlíte jak. Pokud ne, jde spíše o korelaci, která ale neznamená nutně funkční závislost.

Pro kritické hodnocení literatury a interpretaci výsledků je toto třeba striktně rozlišovat. U vlastních výsledků pak autorka v několika případech diskutuje statisticky nesignifikantní rozdíly jako rozdíly. Toho je určitě dobré se vyvarovat, zvláště v recenzním řízení.

4. Inkubace se všemi testovanými látkami byla po dobu 24 h. Na základě čeho autorka zvolila tento časový bod? Je možné, že delší nebo kratší inkubace by vedla k pozitivním výsledkům? Ověřila autorka, že šlo o efektivní stimulaci jednotlivých drah, např. že jsou aktivovány “downstream“ komponenty těchto drah? Jaké experimenty by případně pro tyto účely autorka navrhovala?
5. Mikroskopické analýzy jsou prezentovány v podobě reprezentativních obrázků, bez statistického vyhodnocení. Jakým způsobem by autorka statistické vyhodnocení provedla? Na které parametry by se zaměřila?
6. Jako průkaz zvýšené autofagie je v práci použita analýza hladiny exprese genů pomocí qPCR. Pro větší průkaznost by bylo lepší předložit více důkazů. Kterou metodu by autorka navrhla použít v souladu se standardem v oboru “Guidelines for the use and interpretation of assays for monitoring autophagy (4th edition), Klionsky et al, 2021”?
7. V návaznosti na předchozí otázku, i míra využití metabolické dráhy glykolýzy je stanovována pomocí qPCR. Nicméně hladina exprese jednotlivých enzymů metabolické dráhy nemusí nutně znamenat, že dráha je více, či méně aktivní. Navrhněte prosím, jak přesně sledovat změny ve využití metabolické dráhy.
8. Která z dalších možností stimulace imunomodulačních vlastností MSCs, kromě mitochondriálního transferu má podle Vás největší potenciál?
9. Na základě Vašich výsledků, jaké další směry výzkumu byste navrhovala?

KONFLIKT ZÁJMŮ: Tímto stvrzuji, že nemám žádný konflikt zájmů ve vztahu ke kandidátce ani k její práci.

In Vestec, 27.5.2024.



Kateřina Rohlenová, PhD