



Ústav patologické fyziologie

1. lékařská fakulta

Univerzita Karlova

U Nemocnice 5, 12853 Praha 2

Přednosta: prof. MUDr. Martin Vokurka, CSc.

## **Oponentský posudek na disertační práci Mgr. Barbory Echalar nazvanou “ Vliv nanomateriálů na mezenchymální kmenové buňky a regeneraci tkání“.**

Předložená disertační práce je psána zkrácenou formou, což znamená, že základ práce tvoří 3 recentní publikace, které jsou komentovány formou úvodu do problému a výsledky jeho řešení. V jednom případě je studentka první autorkou a ve dvou případech je spoluautorkou článků publikovaných v solidně impaktovaných časopisech. Navíc je studentka ještě spoluautorkou dalších 8 publikací, které nepřímo souvisí s tématem disertační práce, přestože se zabývají kmenovými buňkami ale jejich různého jiného použití. Celá práce má rozsah 112 stran (včetně vložených publikací) a je psána v anglickém jazyce.

Představené a zpracované téma je v dnešní době velice aktuální. Z různých úhlů pohledu sledované mezenchymální kmenové buňky po interakci s různými nanočásticemi a jejich zprostředkovaný vliv na regeneraci tkáně je téma velmi zkoumané, ale také velmi těžko uchopitelné, protože buněčné reakce nejsou naprosto jednoznačné. Přestože se práce zabývá problematikou základního výzkumu, translační potenciál je v ní jasně patrný.

Práce vychází z předpokladu, že v současné době v biomedicíně používané nanočástice by mohly po interakci s kmenovými buňkami ovlivnit jejich regenerační a imunomodulační potenciál. Proto se zabývá studiem vlivu různých nanočástic na chování – přežívání, smrt, exkreci – kmenových buněk ve vztahu k možné regeneraci, a to i ovlivňováním následné funkce makrofágů.

Literární přehled na cca 20 stranách je napsán velmi čtivě a přehledně. Studentka k představovaným tématům vždy píše kladné i záporné stránky, což je velmi zajímavé a pro čtenáře přínosné. Velmi takový přístup oceňuji.

Následují cíle práce, které úzce souvisí se zaměřením třech komentovaných publikací. V rámci prvního cíle se mají charakterizovat MSC po interakci s kovovými nanočásticemi, které mají antimikrobiální charakter. V rámci druhého cíle se má objasnit vliv těchto nanočástic na terapeutický potenciál MSC a třetí cíl by měl odhalit cytotoxický efekt těchto nanočástic na MSC.

Poté následuje cca 44 stran, kde je vždy na úvod vložené publikace sepsán její stručný přehled (max 2 strany) – cíl, metodický přístup, výsledky a závěr.

Následuje kapitola Diskuse, kde jsou na 7 stranách diskutovány výsledky, kterých bylo dosaženo v rámci jednotlivých vložených publikací. Tato kapitola ale pouze opakuje (vlastními slovy) diskuse z příložených článků, ale postrádá jakoukoli formu vlastního zamyšlení studentky nad všemi třemi prezentovanými články dohromady, což by mělo být výstupem této disertační práce. Výjimkou je poslední odstavce, který se týká ZnO NP a komentuje jejich působení souhrnně a s nadhledem, jak by to mělo být i u ostatních testovaných NP. Obecně smyslem psaní disertační práce je, aby se student ve SVÉ vlastní práci zamyslel komplexně nad všemi SVÝMI dosaženými výsledky a vytvořil z nich vlastní ucelenou prezentaci. Jedině tím jasně dokáže, že je schopen synteticky a kriticky přemýšlet o svém „veškerém“ laboratorním počínání a své výsledky pak jasně a uceleně prezentovat. Příložené články v této disertaci k takovým obecnějším úvahám přímo vybízejí. Bohužel tato disertace ale opravdovou diskusi, která by pojednávala o celé práci jako celku, a nejen o jednotlivých člancích, postrádá.

Práce je uzavřena závěry, které se týkají jednotlivých cílů, které zcela naplňují a na úplný závěr je vloženo celkové shrnutí týkající se efektu nanočástic na MSC a doporučení pro budoucí experimenty nebo aplikace, což pěkně uzavírá celou disertační práci.



Ústav patologické fyziologie

1. lékařská fakulta

Univerzita Karlova

U Nemocnice 5, 12853 Praha 2

Přednosta: prof. MUDr. Martin Vokurka, CSc.

## Z komentářů a otázek, které jsem si při čtení poznamenala, vybírám:

### Komentáře

- 1) Pro usnadnění práce oponentů jakékoli práce (disertační, grantové žádosti, ...) bych doporučovala vždy uvádět i impakt faktor časopisu, ve kterém se publikuje, protože toto číslo teoreticky vypovídá o kvalitě časopisu. Oponenti toto musí zvažovat a když se jim to číslo rovnou nabídne a nemusí ho sami vyhledávat, tak jim to usnadní jejich práci.
- 2) Na str. 50 se v prostředním odstavci uvádí, co se zjistilo v rámci publikace V. Holáň et. al, 2023. Přestože by zde byl na místě podrobnější popis toho, o čem ten článek je a jaké analýzy byly použity, vyskytují se zde stručné až zavádějící věty shrnující podstatu článku. Tento odstavec jsem četla mnohokrát ale stále mi jeho poselství uniká, protože následující odstavec v podstatě říká to samé jen jinými slovy a je to řečeno daleko lépe. Třeba mi uniká, s čím je porovnávána exprese imunomodulačních molekul, když je tam řečeno že je VĚTŠÍ (express significantly more molecules). Dále v následující větě mi přijde zavádějící – strong direct effects – ale není řečeno jaké, jestli jsou pozitivní nebo negativní. Takže komentář k tomuto článku je velmi nesrozumitelný a bez přečtení vlastního článku čtenář nepochopí, co bylo vyzkoumáno a k čemu je to dobré.

### Otázky

- 1) V článku Holáň et. al, 2023 se staví na tom, že MSC jsou fagocytovány makrofágy a proto je ovlivňují. Ale nenašla jsem žádný důkaz (analýzu), že k tomu opravdu dochází. Existují nějaká data nebo vlastní publikace o tom, že MSC po interakci se studovanými NP spáchají apoptozu, vytvoří apoptotická tělíčka a ty jsou pak fagocytovány makrofágy? Protože předpokládám, že celou velkou kmenovou buňku malý makrofág nepohltní.
- 2) Pokud se MSC kultivují s NP nebo se jen tepelně inaktivují, tak neprodukují cytokiny. Pokud se tyto inaktivované MSC přidají do kultury k makrofágům, tak makrofágy zvýší expresi imunomodulačních molekul. Čím si to studentka vysvětluje? A druhá otázka k tématu, když tyto tepelně inaktivované MSC interagují s NP, tak následně dojde opět ke zvýšení exprese imunomodulačních molekul makrofágy. Takže to vypadá, že na inaktivované MSC nanočástice žádný vliv nemají. Co tedy způsobuje tepelná inaktivace MSC? Jak tyto buňky po 10 min v 56°C vypadají? Jsou apoptotické?
- 3) Na straně 88 se na konci prvního odstavce píše, že po CuO NP a i po ZnO NP inkubaci byly detekovány **zvýšené ROS**. Na stejné stránce ale úplně dole se píše, že vliv ZnO NP na zlomy v DNA byl malý, což naznačuje cituji „**protektivní mechanismus ZnO NP proti oxidativnímu stresu**“. Nepřijde mi, že by tato dvě konstatování byla v souladu. Jak to studentka myslela?
- 4) Tím, že jsem v přiložené práci nenašla diskusi propojující jednotlivé publikace, tak bych se chtěla zeptat na vliv jednotlivých testovaných nanočástic na MSC, popřípadě i na makrofágy. Trochu představu jsem si udělala jen u ZnO NP, protože je o nich zmínka úplně na konci Diskuse, ale zajímaly by mě i ostatní kovové nanočástice.

Předložená disertační práce obsahuje data, která jsou součástí výsledků publikovaných již ve 3 časopisech, které jsou v disertační práci komentovány ale nejsou zcela dány do souvislosti. Přestože by část diskuse zasloužila pečlivější propojení dosažených výsledků, k čemuž měla podle mě být studentka nasměrována školitelem, tak studentka ale prokazuje předpoklady k samostatné vědecké práci a proto tuto práci doporučuji k přijetí k obhajobě.

11. května 2024 v Praze

Prof. RNDr. Marie Hubálek Kalbáčová, Ph.D.