

OPONENTNÍ POSUDEK

Dizertační práce MVDr. Jany Juhásové „Buněčná terapie na zvířecích modelech – preklinické studie“ shrnuje výsledky její vědecké činnosti v Ústavu živočišné fyziologie a genetiky v Liběchově, které získala pod vedením profesora Motlíka. Práce má úvod nastiňující problematiku jednotlivých studií, tj. problematiku modelu transgenních prasat, mezenchymových kmenových buněk a možnosti jejich kultivace na biomateriálech, problematiku neurogeneze a míšního poranění. Následují cíle práce, které jsou shrnuty do tří bodů, popis použitých metod, přehled publikací a komentář k publikacím souvisejícím s tématem. Autorka v této práci využila 13 primárních publikací v impaktovaných časopisech a jedné kapitoly v knize. Práce jsou děleny do tří témat, 1. mezenchymové kmenové buňky (7 prací), 2. nervové kmenové buňky a terapie míšního poškození a miniaturní prase (3 práce), buněčná terapie, xenotransplantace, imunosuprese (4 práce). První sada prací se zabývá využitím mezenchymových kmenových buněk nastartovaných do chondrogenní diferenciaci v kombinacemi s různými druhy biomateriálů pro opravu defektů růstové chrupavky a kostních můstků u králíka a miniaturního prasete a kultivací MSC na biomateriálech. V této skupině prací je i prvoautorská publikace Dr Juhásové. Rozsahem je tato skupina prací nejobsáhlejší. Tématicky by sem spadala i práce 12, Filová et al., Composite hyaluronate-type I collagen-fibrin scaffold in the therapy od osteochondral defects in miniature pigs. Jelikož zde byly použity autologní chondrocyty místo MSC, asi proto byla tato práce zařazena do 3. tématické skupiny. Ve druhé skupině jsou práce týkající se izolace oligodendrocytárních prekursorů, neurogeneze v míše a transplantace lidských progenitorových buněk do míchy prasete s cílem ověřit bezpečnost a množství transplantovaných buněk na modelu odpovídajícím humánní medicíně. Ve třetí skupině jsou práce popisující prase jako translační model. Práce je velmi rozsáhlá co do využitých metodik. Autorka se během svého studia musela seznámit s řadou technik, hlavně s chirurgií na králících i prasatech a to jak ortopedických, neurologických nebo transplantace rohovky či infúzních pump. Dále zpracování imunohistochemických řezů na konfokálním mikroskopu a kultivace a diferenciaci MSC na biomateriálech. Vzhledem k různorodosti studií a poměrně velkému počtu spoluautorů by mě zajímalo (aniž bych chtěla jakkoliv snižovat přínos Dr Juhásové), jak se na jednotlivých pracích podílela.

K aktuálnosti práce lze říci, že oblast výzkumu kmenových buněk je velmi studované téma a využití prasat, jakožto translačního modelu mezi studii na hlodavcích a klinickými studii v humánní medicíně bude v budoucnosti hrát stále větší roli.

Vlastní práce má 60 stran, následuje příloha se 14 pracemi. Celkový IF publikací, které jsou podkladem disertační práce je 29,95, navíc je Dr Juhásová spoluautorkou dalších 3 publikací, které nesouvisejí s tématem disertační práce.

Po formální stránce je práce psána pečlivě, překlepy se často nevyskytují, ale občas trpí čeština. Výrazy jako ...“integrují se do funkční sítě, která se zúčastňuje na učení, nebo ...deprese nebo Parkinsonova nemoc skýtají možnost být léčena pomocí transplantace si český jazyk přeci jen nezaslouží. Některé výrazy nejsou použity zcela přesně, například výzkum propojující základní výzkum s klinickou aplikací je spíše translační než interdisciplinární. Neurony vznikají prenatálně a ne jen perinatálně, tj v období porodu. Pro nás je relevantní povolení klinických zkoušek od SÚKL nebo EMA a ne FDA. Toto jsou však jen maličkosti, které neubírají kvalitě předložené práce. Práce v příloze by mohly být číslovány stejně jako v komentovaných výsledcích, čtenář by se příloze lépe orientoval. Jediná věc, která mi v práci opravdu chybí je diskuze, která by byla společná pro danou skupinu publikací a vždy se vztahovala k vytyčenému cíli.

Jelikož zde ale není, mám k práci tyto otázky:

V první skupině prací se řešil defekt růstové ploténky transplantací nosiče osázeného MSC. Zajímalo by mě, jestli se na nějakém modelu zkušelo transplantovat MSC v nosiči,

aniž by tyto buňky byly předem vystaveny chondrogennímu diferenciačnímu mediu. Pokud by tyto studie měly sloužit jako translační, čím méně látek se během ex vivo kultivace použije, tím jednodušší bude schvalovací proces. Možná, že samotné prostředí by bylo dostačující pro navození diference.

Jak se lišily vlastnosti použitých nosičů. Byl nějaký důvod pro změnu nosiče u prasat z hyaluronanu na kolagen/chitosan? Je ten nosič z hyaluronanu ten samý, co byl v práci 12 použit pro kultivaci chondrocytů?

Jak byste hodnotila výsledky dosažené s autologními chondrocyty ve srovnání s MSC.

Jaký je váš názor na to, že terapeutická léčba fungovala u králíků, ale nefungovala u miniprasat.

V mezičase, zkoušeli jste transplantovat 3D nosič s osteogenními buňkami do nějakého *in vivo* modelu (pilotní studie)?

K práci o ependymálních progenitorech mám dotaz, jestli jste se pokoušeli lokalizovat, BrdU, Nestin a další marker nebo pouze nestin a další marker. Byl nějaký rozdíl mezi fenotypem BrdU pozitivních buněk u cvičících potkanů a potkanů s míšním poraněním?

Závěrem lze shrnout, že i přes uvedené připomínky je nepochybné, že MVDr. Jana Juhásová v dizertační práci prokázala schopnost samostatné tvořivé práce a doporučuji jí proto udělit titul „Ph.D.“ za jménem.

v Praze, 7.3.2011



RNDr. Pavla Jendelová, PhD.
oponent