



Vážená paní

ThDr. Jitka Sýkorová, PhD.

2. lékařská fakulta Univerzity Karlovy

V Úvalu 84

150 06 Praha 5 – Motol

jitka.sykorova@lfmotol.cuni.cz

Věc: Oponentský posudek dizertační práce

Název dizertační práce: Využití kmenových buněk v léčbě amyotrofické laterální sklerózy / The use of stem cells in the treatment of Amyotrophic lateral sclerosis

Autor dizertační práce: Mgr. Monika Řehořová

Školitel: doc. RNDr. Pavla Jendelová, Ph.D.

Předložená dizertační práce se věnuje vývoji a popsání buněčné terapie neurodegenerativních změn v *in vivo* modelu ALS. ALS je ve svých několika formách dosud neléčitelné onemocnění s fatálními následky. I přes mnohé studie a úsilí není proces neuropatogeneze plně popsán a potenciální cílená terapie není známa. Proto jednou perspektivní možností, které se v práci věnuje autorka, je využití buněčné terapie k náhradě odumřelých buněk nebo zachování vlastních buněk postižené tkáně prostřednictvím ovlivnění mikroprostředí. Pro tento účel byl zvolen potkaní model ALS (kmen SOD1^{G93A}), který vcelku věrně modeluje ALS u lidí. Pro buněčnou terapii byly vybrány obecně snadno dostupné MSC a nervové prekursorů derivované z iPS (NP-iPS). Transplantace buněk do oblasti míchy nebo svalu a zejména pak jejich kombinace je perspektivní postup. Vzhledem k tomu, že podobně jako u jiných neurodegenerativních onemocnění (PD, HD) není odumírání postižených buněk striktně izolovaným dějem uvnitř dotčené buňky, ale do tohoto procesu mohou být zapojeny i interagující buňky a prostředí (např excitotoxicita u HD apod.).

Výsledky jsou srozumitelně prezentovány, ve formátu shodném s publikacemi. Z nich vyplývá pozitivní léčebný efekt podaných buněk na přežívání nebo oddálení nástupu onemocnění. Delší přežívání u experimentálních zvířat při “preventivním” podání NP-iPS buněk ještě v asymptomatické fázi ukazuje efekt závislý na čase zahájení léčby, přičemž vliv na samotnou progresi není až tak významný. Podobně aplikace MSC buněk zajistila pozdější nástup onemocnění.



Z diskuze je patrné, dle mého mínění zcela správné, hodnocení experimentálního podání buněk, jako efektivního postupu k modulaci prostředí za účelem zpomalení neurodegenerativních změn. Autorka si je vědoma interpretačních a aplikačních omezení vyplývajících ze zvoleného model ALS, stejně tak jako reálných vlastností terapeutických buněčných populací z pohledu jejich účinku a bezpečnosti.

Autorka tak prokázala předpoklady k samostatné a racionálně vedené práci. Drobná výtká se týká zpracování dizertační práce, konkrétně se jedná o některé složité formulované věty a především případy nešťastného doslovného překladu anglické terminologie. Důkladnější kontrola textu by jistě vedla k eliminaci slovních spojení jako “obchodování s vesikuly” str.14, tab 1, 6x nebo Studentský nepárový test, str. 50 a dalších.

Publikační úroveň článků vydaných v impaktovaných časopisech, na základě kterých byla práce vypracována, je vynikající. Všechny časopisy jsou ve svých oborech hodnoceny jako vysoce nadprůměrné a jsou konkrétně v oborech Cell & Tissue engineering, Biology, Cell biology, Pharmacology & Pharmacy umístěny v prvním quartilu (Q1). Z toho lze předpokládat, že zpracovávané téma a získané výsledky mohou oslovit širokou odbornou veřejnost a významně přispět nejen k rozvoji výše zmíněných oborů, ale doufejme i k nalezení budoucí efektivní léčby ALS.

Přes některé nedostatky ve zpracování, hodnocená práce splňuje požadavky kladené na dizertační práci.

Na základě výše uvedeného doporučuji dizertační práci Mgr. Moniky Řehořové k obhajobě.

Otázky oponenta k diskusi během obhajoby:

Při sledování neurodegenerativních změn v CNS je využíváno sledování aktivace astrocytů pomocí stanovení GFAP (doi:10.1016/j.pneurobio.2011.01.005, doi:10.1016/j.jocn.2015.10.008). V práci je prezentován graf GFAP exprese v léčené míše potkanů obr.21, str. 71. Není překvapivé pokud léčené experimentální skupiny nevykazují signifikantně nižší GFAP v porovnání s neošetřenou ALS skupinou (pozitivní kontrola, PBS). Zajímavé je, že ani zdravá tkáň (negativní kontrola, WT) není signifikantně odlišná. Může autorka okomentovat nakolik je stanovení GFAP exprese relevantní pro sledování neuropatogeneze v použitém modelu? Bylo možné očekávat, že zvolená metoda stanovení bude dostatečně citlivá nebo byly parametry získaných dat nedostatečné pro statistickou významnost?



Ústav živočišné fyziologie a genetiky AV ČR, v. v. i.

Laboratoř buněčné regenerace a plasticity,

Rumburská 89, 277 21 Liběchov, Česká republika

IČO: 67985904 DIČ: CZ67985904

ID Datové schránky: tw6hm2a

tel.: 315 639 532; fax: 315 639 510

E-mail: uzfg@iapg.cas.cz; URL <http://www.iapg.cas.cz>

Část práce se věnuje studiu reparačních mechanismů poškození DNA u hESC (linie CCTL12 a CCTL14). Byl zdůrazněn význam studia zapojení těchto mechanismů v nízkých pasážích z důvodu možných změn v preferenci některých z nich a snížené stability genomové DNA následkem dlouhodobé kultivace in vitro. Při míšním podání NP-iPS se jednalo o buňky odvozené z jiné pluripotentní linie (Polentes et al. 2012). Jsou pro tuto iPS linii (případně NP-iPS) k dispozici publikovaná data naznačující obdobné zapojení jednotlivých reparačních drah nebo jsou známy změny v závislosti na pasáži? Následně prosím o uvedení kolikátá pasáž NP-iPS linie od jejího samotného ustanovení byla použita v experimentech.

V Liběchově dne 24.1.2020

Mgr. Jiří Klíma, CSc.