



V Praze, 26.1.2020

**Oponentský posudek disertační práce Mgr. Moniky Řehořové na téma Využití kmenových buněk v léčbě amyotrofické laterální sklerózy**

**Cíle disertační práce, výsledky a aktuálnost zvoleného tématu**

Ve své práci se Mgr. Řehořová věnuje především studiu efektu podání různých typů kmenových buněk na progresi onemocnění v modelu amyotrofické laterální sklerózy u laboratorního potkana. Dále se zaměřuje na studium genetických vlastností lidských embryonálních kmenových buněk a jejich náchylnost k mutacím. V závěru práce se věnuje možnostem značení kmenových buněk pomocí magnetických nanočástic. Jedná se o velmi aktuální témata zaměřená na jedno z nejzávažnějších neurologických onemocnění, které má infaustní prognózu a u kterého doposud neznáme klíčové mechanismy vzniku

V úvodu práce se autorka věnuje popisu ALS a mechanismům, které se uplatňují v patogeneze ALS. Detailně se věnuje popisu jednotlivých procesů, které jsou v současné době známé a které se podílí na zániku míšních motoneuronů. Dále se autorka věnuje popisu současných modelů ALS, které jsou založeny především na transgenních modelech. Vzhledem k tomu, že doposud neexistuje kauzální léčba ALS, léčba kmenovými buňkami představuje jednu z možností léčby, která může zpomalit degeneraci neuronů a progresi onemocnění. Proto se autorka v další části práce detailně věnuje popisu buněčné terapie a jednotlivým typům kmenových buněk – embryonálním, indukovaným pluripotentním a mezenchymálním kmenovým buňkám. Úvod je napsaný velmi čtivě a umožňuje čtenáři seznámit se s aktuálními poznatky o ALS. Následuje popis hypotéz a cílů disertační práce a popis metodik, které autorka použila ve svých experimentech a které zahrnují velkou škálu experimentálních technik.

Výsledky jsou členěny do oddílů dle stanovených čtyř základních hypotéz. V první části autorka studovala terapeutický vliv opakované aplikace mesenchymálních kmenových buněk do míchy či opakované aplikace do svalu. Výsledky prokázaly, že aplikace kmenových buněk zpomalila progresi onemocnění. Efekt léčby byl popsán jak na době přežívání zvířat, tak na úrovni zachování motorických funkcí, či počtu motoneuronů v míše. Zde je zapotřebí ocenit velmi detailní a precizní hodnocení vlivu léčby, kdy se autorka s využitím morfologických technik zaměřuje na studium procesů buněčné smrti motoneuronů a osudu transplantovaných buněk v míše. Zajímavé výsledky přináší analýza expresního profilu specifických genů, především genů, které hrají úlohu v apoptóze, nekróze, nebo genů významných pro perineurální síť, či expresi neurotrofických faktorů. Analogicky autorka studovala i vliv buněčné terapie nad expresí vybraných proteinů. V případě aplikace do svalů byly hodnoceny parametry, které definují vlastnosti nervosvalových plotének. Stejně postupy autorka použila i k testování léčby s využitím neuronálních prekurzorů. Tato léčba také zpomalila progresi onemocnění.

Další část výsledků je věnována analýze stability genomu lidských embryonálních kmenových buněk, kdy se autorka snaží přinést vysvětlení o vysoké náchylnosti tohoto typu kmenových buněk k mutacím. Závěrečná část výsledků je věnována studii značení neuronálních prekurzorů pomocí magnetických nanočástic. V této studii byly testovány různé nanočástice, jejich vychytávání buňkami a především jejich vliv na proliferaci a neuronální diferenciaci. Zde autorka prokázala cytotoxický efekt nanočástic, neboť jejich podání významně snižovalo proliferaci buněčných kultur. Výsledky práce jsou kriticky diskutovány v diskusi a interpretovány v kontextu současných poznatků o využití kmenových buněk v léčbě ALS.

## Výsledky disertační práce a její přínos pro další rozvoj vědy

Předložená disertační práce je velmi kvalitní a vykazuje všechny předpoklady pro úspěšné splnění podmínek samostatné tvůrčí vědecké práce. Jedná se o multioborovou práci s vysokým translačním potenciálem. Presentované výsledky byly navíc publikovány v mezinárodních časopisech s impaktovým faktorem, kde figuruje Mgr. Monika Řehořová jako hlavní autorka, či spoluautorka. Získaná data přináší důležité poznatky o možnostech využití kmenových buněk v léčbě ALS, jakým způsobem tato léčba funguje a jaké procesy ovlivňuje. Práce přináší nové poznatky o genetické nestabilitě embryonálních kmenových buněk a možnosti využití nanočástic ke značení kmenových buněk. Práce svědčí o širokém rozhledu autorky a znalosti celého spektra experimentálních technik od buněčných kultur, přes behaviorální testování, histologické techniky, molekulárně biologické metody až po proteomiku.

## Připomínky k formální stránce práce

Disertační práce splňuje veškeré formální aspekty. Obsahuje celkem 124 stran. Práce je napsána velmi čtivě a odborně v českém jazyce s minimem překlepů a gramatických chyb. Text je doplněn velmi kvalitními obrázky a schématy. Množství použitých citací svědčí o důsledné práci autorky s odbornou literaturou. Práce obsahuje seznam použité literatury, seznam zkratk a vlastních publikací autorky.

## Témata pro diskusi při obhajobě disertační práce

1. Jak si autorka vysvětluje efekt muskulárního podání kmenových buněk na delší přežívání zvířat a na zpomalení progresu onemocnění?
2. Existuje rozdíl v účinku mezi mezenchymálními kmenovými buňkami a neuronálními prekurzory?
3. Z diskuse vyplývá, že zvýšená exprese MMP-9 je jedním z hlavních faktorů ovlivňující progresi onemocnění. Bylo by možné okomentovat úlohu MMP-9 v normální nervové tkáni a v ALS?
4. Jak autorka vidí budoucnost využití kmenových buněk v léčbě ALS?
5. Jaké jsou možnosti genové terapie v léčbě ALS?

## Závěr

Na základě rozboru disertační práce, její vědecké úrovně, původnosti a řešení konstatuji, že Mgr. Monika Řehořová prokázala vysoké tvůrčí vědecké schopnosti a předložená práce splňuje požadavky kladené na práce tohoto typu ve smyslu §47 VŠ zákona 111/98 Sb. Navrhuji komisi pro obhajoby kandidátských disertací, aby předloženou práci posoudila kladně a uchazečce udělila titul „Ph.D.“.

  
prof. MUDr. Přemysl Jiruška, Ph.D.