



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. Jany Vallové nazvanou “ Vliv extracelulární matrix na změnu struktury a regeneraci nervové tkáně “.**

Předložená disertační práce je psána klasickou formou a jsou k ní přiloženy 3 publikace, které jsou podkladem této práce. V jednom případě je studentka první autorkou a ve dvou případech je jen spoluautorkou ale v solidně impaktovaných časopisech. Navíc je studentka ještě spoluautorkou dalších 8 publikací, které ale nepřímo souvisí s tématem disertační práce, protože se zabývají neuroregenerací. Celá práce má rozsah 102 stran (plus příloha) a je psána v českém jazyce.

Představené a zpracované téma je v dnešní době velice aktuální a v práci současné využití *in vitro* a *in vivo* testů je pro danou tematiku vysoce přínosné. Přestože se práce zabývá problematikou základního výzkumu, translační potenciál je z ní jasně patrný.

Práce vychází z předpokladu, že extracelulární matrix není pouze strukturální složka tkání, ale i aktivně vstupuje do různých biologických dějů a proto její modulaci lze ovlivňovat reakce buněk následované reakcemi celých organismů. V práci jsou prezentovány nejen *in vitro* pokusy na buňkách ale i *in vivo* pokusy na hlodavcích, což naznačuje v budoucnosti možné použití získaných výsledků i v klinické praxi.

Literární přehled na cca 15 stranách je napsán precizně a srozumitelně, jen bych navrhovala použít více obrázků, které mnohdy řeknou více než slova, např. struktury GAG a jejich dělení nebo perineuronální síť.

Následují hypotézy, které se týkají dvou odlišných, ale spolu souvisejících částí dizertace. První hypotéza řeší, zda je možné pomocí perorálního podávání blokátoru syntézy kyseliny hyaluronové rozvolnit perineuronální síť, což bude detekováno pomocí různých laboratorních metod, a tímto rozvolněním ovlivnit motorické a paměťové schopnosti myši. Druhá hypotéza se týká možnosti využití extracelulární matrix z lidského pupečníku jako nosiče vhodného pro regeneraci nervové tkáně, což by měly ukázat jak *in vitro* testy na různých buněčných liniích tak testy *in vivo* na modelu kortikální fotochemické léze. Studentka si klade i řadu pod cílů, které se zabývají dílčími kroky vedoucími k zodpovězení základních otázek.

Část Materiály a Metody dobře dokumentuje použitý materiál i postupy.

Poté následuje cca 35 stran týkajících se výsledků a disku. Výsledky jsou ve většině textu rovnou řádně s citacemi diskutovány. Avšak některé výsledky (týkající se hlavně druhé části – přípravy ECM z pupečníku) prezentované např. obrázkem 18, 19 nebo 24, řádně okomentovány nejsou, přestože ukazují spoustu zajímavých dat.

Závěry a výsledky dílčích cílů jsou jasně formulované a vycházejí z prezentovaných výsledků.

Obsahově je práce zajímavá a logicky uspořádaná, takže by si ji mohl přečíst i čtenář, který není úplně stejně zaměřený. Ale velmi rušivým elementem při samotném čtení je zvolený jazyk, který zřejmě není studentky mateřský a proto se dopouští velké, ale opravdu velké spousty gramatických chyb. Čeština na rozdíl od slovenštiny má nepříjemné pravidlo shody podmětu s přísudkem, kdy se v přičestí minulém používají měkké i a tvrdé y v závislosti na podmětu, což tedy studentka úplně nerespektovala. Nejvíce je to patrné v části 5. Závěr a 6. Souhrn, které by podle mého názoru měly být úplně bezchybné, protože jsou nejvíce důležité, ale v dizertaci i v autoreferátu, který vznikl kopírováním, jsou pro českého čtenáře velmi těžko stravitelné.



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) Některé publikované věty nedávají smysl – např. str. 19 2. odstavec, str. 65 3.věta od konce,...
- 2) Na některé prezentované obrázky neexistuje odkaz v textu (např. obr. 1, obr. 4, obr. 9, ...).
- 3) Na straně 62 je špatně očíslován obrázek, je podruhé použito číslo 14 a pak tedy odsud veškeré číslování a odkazy v textu jsou špatně. V odkazu na té samé straně se hovoří o obr. 14 A,B, který vlastně neexistuje.
- 4) Obr. 22 není úplně dobře popsán, chybí konkrétní popis C, D, E
- 5) U obr. 24 zřejmě chybí obrázky D a H nebo je divný popis.

### Otázky

- 1) V kapitole 4.3.2 studentka porovnává proliferaci různých typů kmenových buněk na připravené ECM z lidského pupečníku versus z prasečích tkání. V této části textu zcela chybí jakákoliv diskuse na téma, čím by mohla být zvýšená proliferace buněk na UC-ECM v porovnání s ostatními ECM způsobena. Nemůže to být specificitou buněk? Že lidským buňkám lépe vyhovuje lidská ECM v porovnání s prasečí? Bylo by možné mít prasečí UC-ECM a pak to teprve porovnat?
- 2) V té samé kapitole se ještě porovnává schopnost migrace buněk na různých ECM a opět zde chybí nějaký komentář. Co si studentka myslí o tom, že hWJ-MSC nejlépe migrují na UB-ECM a na UC-ECM k velké migraci nedochází, i když v první větě na té stránce se píše, že stimulace migrace pomocí UC-ECM byla prokázána pro všechny typy MSC? Ještě malá poznámka, nikde není vysvětleno, co vyjadřuje první sloupec označený SDF-1 a proč jsou tyto hodnoty tak vysoké.
- 3) Na straně 73 se v předposlední větě píše, že „Tato koncentrace ... bez škodlivého účinku na proliferaci, axonální pučení a růst a diferenciaci nervových kmenových buněk“. Chybí tady odkaz na nějaký obrázek, který by toto důležité konstatování dokazoval. Na další stránce sice následuje obr. 21, který ukazuje proliferaci, ale axonální pučení ani diferenciaci jsem nikde v práci nedohledala. Z čeho tedy studentka vychází?
- 4) Prosím o vysvětlení textu, který souvisí s obrázkem 21. V textu se říká, že je pro buňky více cytotoxický genipin o koncentraci 15 mM, který je použit pro síťování gelu než stejná koncentrace genipinu volně lokalizovaného v médiu. A vysvětluje se to tím, že se nějaký genipin z gelu uvolňuje. Ale podle mého názoru, když je použita stejná koncentrace pro síťování jako pro volný genipin, tak nějaká část genipinu zůstane plnit svoji roli síťovadla a jen malá část z této koncentrace se třeba uvolní, ale neměla by dosáhnout stejné koncentrace jako u volného genipinu. Prosím o komentář a popřípadě další možnou teorii, která by mohla zvýšenou toxicitu genipinu v zesíťovaném gelu vysvětlovat.

Předložená dizertační práce obsahuje data, která jsou součástí již prezentovaných výsledků formou publikací, která jsou ale v dizertační práci patřičně komentována a dána do souvislosti. Přestože by práce zasloužila pečlivější jazykové korektury a větší preciznost při práci s obrázky a textem, tak studentka prokazuje předpoklady k samostatné vědecké práci a proto tuto práci doporučuji k přijetí k obhajobě.

11. srpna 2022 v Praze

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