



V Olomouci 5. září 2016

**Věc: Posudek na disertační práci MUDr. et Mgr. Michaely Miklíkové**

**Mesenchymal stem cells and their regenerative and immunomodulatory potential  
Mesenchymální kmenové buňky a jejich regenerační a imunomodulační potenciál**

Předložená disertační práce představuje ucelenou formu sdělení strukturovaného standardním způsobem. Věnuje se velmi aktuální problematice: vlivu mesenchymálních kmenových buněk (MSC) na regeneraci tkání a imunomodulačním vlastnostem MSC. V experimentální části byl charakterizován vliv přítomnosti MSC na přežívání a aktivitu prasečích kardiomyocytů *in vitro*, vliv MSC na regeneraci prasečích jater *in vivo* a schopnost MSC ovlivnit aktivaci T lymfocytů a průběh akutní a chronické GVHD. Význam této práce spočívá ve velmi důležité snaze popsat mechanismy působení MSC na jasně definovaných modelech s jasně definovanými parametry, které jsou objektivně vyhodnoceny.

Práce je psána anglicky. Autorka volila plnou verzi disertační práce. V první části představuje současný pohled na problematiku MSC včetně přehledu některých klinických aplikací a rozebírá mechanismy, které se uplatňují nebo mohou se uplatňovat při terapeutickém použití MSC zejména v oblasti modulace průběhu ICHS, hepatopatií a posttransplantační GVHD.

Po úvodu následuje přehled použitých metod, dále pak výsledky včetně 23 obrázků a 4 tabulek a jejich diskuse.

V metodické části je uvedeno a jasně popsáno spektrum potřebných metod jak přípravy a charakterizace prasečích a lidských MSC tak i metod testování efektu MSC na *in vitro* modelech. Na straně 61 uvádí autorka: "IL-4 were considered to be Th1 cells, cells positive for IFN –  $\gamma$  were considered to be Th2 cells" prosím o korekci a vyjádření významu pro interpretaci.

Výsledková část a diskuze je jasně a srozumitelně zpracována. Nejdříve byly charakterizovány MSC izolované z kostní dřeně a byly charakterizovány populace diferencovaných adipocytů, chondrocytů a osteoblastů/osteocytů. Na obrázku 7. jako kontrola diferenciaci MSC by bylo vhodné ukázat výsledky barvení všemi třemi barvicími postupy pro různě diferencované populace.

Bylo prokázáno statisticky významně delší přežívání kardiomyocytů v přítomnosti MSC *in vitro*, oproti kontrole. Naopak nižší parametry kontrakce kardiomyocytů kultivovaných v přítomnosti MSC byly zdůvodněny a směry dalšího studia byly vytyčeny.

V případě studia vlivu MSC na regeneraci jater v prasečím modelu jaterního poškození indukovaného arteficiální obstrukcí žlučodů následovanou resekci části jater byly prokázány odchylky v koncentraci IL-6 a byl vhodně diskutován biologický dopad.



V poslední skupině experimentů byl testován vliv MSC na průběh GVHD *in vivo* a rovněž byl modelován *in vitro* efekt MSC na aktivaci T lymfocytů. Výrazná dávková závislost imunosupresního působení MSC byla prokázána. Určitá disproporce v povšechném hodnocení vlivu MSC na průběh GVHD je patrná ze srovnání výsledkové části a diskuse. Ve výsledkové části je uvedeno: "clinical improvement of GVHD in patients was satisfactory. In 90 % of patients enrolled in study dose of corticosteroids was decreased. In 3 month check more than 90 % of patients received lower corticosteroid doses, in average 59 % of initial dose (21 – 100 %). In acute GVHD patient group even 3 patients reached complete remission, in 3 patients partial remission occurred". Zde postrádám data od kontrolních skupin pacientů. V diskuzi je uvedeno: "In our work MSCs transplantation did not showed statistically significant effect on patients, both with acute and chronic GVHD." Diskuse zřejmě používá jiná kritéria, snad právě srovnání s kontrolní skupinou.

Další studie jsou nutné pro posouzení možných imunologických a klinických důsledků použití MSC zejména v souvislosti s imunitní odpovědí pacientů po transplantaci a v imunosupresi jak sama autorka uvádí.

Celkově oceňuji autorčinu schopnost obsáhnout rozsáhlé spektrum metod a schopnost interpretace experimentálních dat. Rovněž diskuse na závěr práce potvrzuje autorčin literární přehled, orientaci v problematice a medicínské vnímání pozorovaných jevů.

**MUDr. et Mgr. Michaela Miklíková** je autorkou tří publikací věnujících se tématice MSC z nichž dvě jsou publikovány v časopisech s IF a na jedné působí jako první autor. Mimo to je spoluautorkou dalších dvou publikací z nichž jedna je v časopise s IF.

Prosím, aby jako součást obhajoby disertační práce byly odpovězeny tyto otázky:

1. Proč jste v úvodní kapitole zařadila myocyty do skupiny buněk diferencovaných z entodermy? (Obrázek 1)
2. Na straně 20 píšete: When MSCs differentiate into osteocytes, adipocytes or chondrocytes all these cells express MHC-I, but not MHC-II. It shows that MSCs are non-immunogenic before and also after differentiation *in vitro*. Vyplývá z toho, že MHC-I není imunogenní?
3. Není jasné, které experimenty byly prováděny PHD studentkou. Můžete blíže popsat experimenty, které jste prováděla.
4. V mnoha případech ukončujete odstavec vyjádřením, že je třeba větší počet analýz nebo experimentálních zákroků aby bylo možné vyvodit závěr o efektivitě daného terapeutického postupu. V čem očekáváte přínos analýz na větším počtu vzorků nebo přínos provedení terapeutického postupu na větším počtu pacientů?

Závěrem lze konstatovat, že předložené dílo splňuje všechna kritéria kladená na disertační práci v biomedicínských oborech. Autorka prokázala nejen schopnost samostatné vědecké činnosti, ale i schopnost získané výsledky posoudit a vyvodit odpovídající závěry. Úroveň zpracování i prezentace získaných dat svědčí o velmi dobrých teoretických i praktických znalostech



Lékařská fakulta  
Univerzity Palackého  
v Olomouci

Ústav imunologie

doktorandky. Na základě uvedených skutečností konstatuji, že se jedná o zdařilé vědecké sdělení, a doporučuji proto disertační práci MUDr. et Mgr. Michaely Miklíkové k obhajobě s tím, aby jí byl v případě úspěšného průběhu obhajoby udělen akademický titul doktor ve zkratce Ph.D. podle § 47 Zákona o vysokých školách č. 111/98 Sb.

Prof. MUDr. Mgr. Milan Raška, Ph.D.  
Ústav imunologie LF UP Olomouc

Hněvotínská 3, 775 15 Olomouc

[www.lf.upol.cz](http://www.lf.upol.cz)

<http://imunologie.upol.cz/>

Přednosta ústavu:

Prof. Mgr. MUDr. Milan Raška, Ph.D. .tel.: +420 585 632 751, e-mail: [milan.raska@upol.cz](mailto:milan.raska@upol.cz)

Sekretářka:

Jana Rábková, tel.+420 585 632 752, e-mail: [jana.rabkova@upol.cz](mailto:jana.rabkova@upol.cz)