

OPONENTNÍ POSUDEK

Dizertační práce Mgr Pavly Sauerové „Studium interakce buněk s biomimetickým materiálem a jeho využití v biomedicíně“ shrnuje výsledky její vědecké práce Biomedicinském Centru lékařské fakulty Univerzity Karlovy v Plzni, kde pracovala pod vedením doc Hubálek Kalbáčové. Cílem práce bylo studium vzájemných vztahů a interakcí buněk s různými typy biomateriálů, sloužících primárně pro účely tkáňového inženýrství kostí. Základem práce jsou 4 vyšlé publikace, jeden manuskript přijatý do tisku a 2 manuskripty v přípravě, ve kterých je Mgr Sauerová 3x hlavní autorkou a 4x spoluautorkou. Navíc autorka uvádí další manuskript odeslaný do tisku, ve kterém je spoluautorkou a který souvisí s tématem, ale není přímým podkladem disertační práce. Ta má 109 stran bez příložených publikací. V úvodu, který má 36 stran, autorka podrobně popisuje složení a typy různých biomateriálů využívaných ve tkáňovém inženýrství kostí, složení přírodní i umělé extracelulární matrix, její funkci a význam pro adhezi, růst a diferenciaci buněk. Poslední část úvodu se zabývá popisem kmenových buněk, jejich diferenciací, kultivací a využitím ve tkáňovém inženýrství.

Cíle práce jsou shrnuty do 4 ucelených bodů zahrnujících jednu a více publikací. První tři části si kladou za cíl objasnit vztah různých typů biomimetických materiálů a jejich vliv na cytotoxicitu a růst různých typů buněk. Poslední část studuje adhezi buněk a vliv proteinů v obecné rovině. V kapitole Metody jsou bodově shrnuty jednotlivé metodiky a buněčné kultury a linie použité v disertační práci. Podrobněji jsou popsány techniky z připravovaného manuskriptu. Z kapitoly vyplývá, že autorka zvládla kultivaci a hodnocení adheze a růstu různých typů buněk, imunocytochemii, zobrazování a obrazovou analýzu pomocí fluorescenční a konfokální mikroskopie a RT PCR. Výčet metodik je doplněn použitými statistickými testy. Kapitola výsledky se skládá ze 4 částí, které odpovídají vytyčeným cílům. V první části jsou charakterizovány koloidální komplexy Cetrimonium bromidu (CTAB) nebo Septonexu, které mohou sloužit jako nosiče pro různá léčiva, ale mohou být cytotoxické. Proto byly studovány komplexy CTAB a Septonexu s kyselinou hyaluronovou, s cílem snížit toxicitu surfaktantů. Druhá část práce se zabývá různě zesíťovanými nosiči na bázi kolagenu a jejich osidlováním buňkami s využitím statické a dynamické kultivace. Třetí část práce hodnotila in vitro vliv utkaných nano/mikrovrstev impregnovaných různými antibiotiky na růst osteoblastů a v poslední část se zabývala adhezí buněk za různých kultivačních podmínek. Po odborné stránce má práce velmi dobrou úroveň, všechny vyšlé publikace, které jsou podkladem práce, jsou v impaktovaných časopisech a byly podrobeny recenznímu řízení. Součet IF těchto publikací je 16,142.

Po formální stránce je práce psaná v anglickém jazyce a je pečlivě připravená a doplněná obrázky. Nedílnou součástí práce jsou příložené vyšlé publikace a akceptovaný manuskript. Překlepy se vyskytují zřídka (str 12. hyroxylaton místo hydroxylation, „often give rise to a mixed population of cells (chybí to)“, strana 56 ve slově cultivation chybí l). V úvodu by mohlo být více obrázků, například struktura ECM. Obrázek 4 je ve velmi špatné kvalitě a je v podstatě nečitelný. V anglickém textu by v grafech měly být desetinné tečky a ne čárky (obrázek D5, strana 59). Zatímco obrázky připravovaných manuskriptů jsou přímo v textu, obrázky vyšlých publikací jsou jen v podobě odkazů na příslušné publikace. Toto řešení je čtenářsky nepohodlné a bylo by mnohem přívětivější graficky zdokumentovat stěžejní výsledky přímo v textu práce.

K práci a do diskuze mám tyto otázky

1. Zajímalo by mě, jestli víte kolik se aktivní látky (CTAB, Septonex) dostane přímo do buněk a jestli se tento poměr může změnit při aplikaci v HyA komplexu.

2. Překvapilo mě, že buňky osídlily jen 6% tloušťky kolagenového nosiče (300 um). Zkusili jste prodloužit dynamickou kultivaci na delší dobu? Případně začít kultivaci staticky a po 1-2 dnů kultivovat dynamicky.
3. Genová exprese diferenciačních markerů neukázala žádné velké změny. Byly osídlené nosiče kultivovány v diferenciačních mediích, nebo v základním kultivačním mediu? Může neochota buněk diferencovat v nosiči souviset s jejich nízkým počtem? Zkusili jste genovou expresi po delší době než jen 14 dní?
4. Zkoušeli jste sledovat adhezi buněk místo v FBS třeba v destičkovém lyzátu, který je často používán pro kultivace buněk pro klinické použití?
5. V úvodu popisujete MSC jako klasické multipotentní mezenchymové kmenové buňky s diferenciačním potenciálem, které mohou i transdiferenciovat. Jaký je váš názor na nedávno vyšlou práci A. Caplana v Stem Cell Translational Medicine, který apeluje na přejmenování MSC z mesenchymal stem cells na medicinal signalling cells.

Závěrem lze shrnout, že Mgr Sauerová v dizertační práci prokázala schopnost samostatné tvořivé práce, splnila vytyčené cíle práce, a proto doporučuji práci k obhajobě s cílem získání titulu PhD.

v Praze, 23.8.2017

Doc. RNDr. Pavla Jendelova, PhD.