

Oponentský posudek na disertační práci:

Ing. Roman Matějka

„Autonomní systém pro udržení biofyzikálních podmínek potřebných pro kultivaci biologických kultur in vitro“

Problematiku uvedenou v předložené disertační práci lze považovat za aktuální a v současné době rozvíjenou zejména ve spojení s rozvojem nových metod pro vytváření kardiovaskulárních náhrad, neboť kardiovaskulární choroby patří k civilizacím s nejvyšší úmrtností.

Cíle práce jsou definovány v návaznosti na předchozí rozbor řešení problematiky. Hlavním cílem práce bylo prokázat pozitivní vliv dynamické kultivace buněk v kultivačních systémech (bioreaktorech) na proliferaci, diferenciaci a genovou expresi buněk oproti běžně používané statické kultivaci. Hlavním záměrem bylo využití těchto kultivačních systémů pro výzkum a vývoj nových implantabilních tkáňových náhrad hlavně pro kardiovaskulární aplikace.

Obsah předložené disertační práce se zakládá na původních projektech a experimentech, na kterých se disertant podílel značnou, nebo rozhodující měrou. Výsledky disertace přispívají k rozvoji vědeckého poznání v dané disciplíně. Výsledky a vysoká vědecká úroveň je dokumentována hodnotnými publikacemi.

Třetí kapitola práce je věnována stavbě kultivačního systému zahrnující decelularizační a perfuzní jednotky a speciální kultivační komory pro uchycení vhodných konstruktů pro následnou recelularizaci. Tyto systémy jsou logicky rozděleny z hlediska použité tkáně (planární a tubulární) a daného typu fyziologické zátěže (perfuzní smykové napětí, hydrostatická stimulace a elasticko-tlaková zátěž) simulující podmínky v krevním řečišti. Jednotlivé typy kultivačních systémů jsou kromě souhrnného technického a experimentálního popisu dokumentovány z hlediska technického řešení v příložených užitečných vzorech a zároveň je patrné i jejich využití v publikovaných článcích a kapitolách v odborných knihách.

V následující kapitole autor popisuje výsledky experimentů, v nichž byly použity navržené kultivační systémy. Jednotlivé dílčí podkapitoly (příprava decelularizovaných tkání; podpora endotelizace; podpora buněčné diferenciaci směrem k hladkému svalu a příprava implantabilních náhrad) jsou kromě stěžejních experimentálních výsledků doplněny o jednotlivé publikované práce, kde je vidět velký podíl autora. Každá jednotlivá část je publikována alespoň ve dvou impaktovaných příspěvcích a zároveň i z technického hlediska chráněna formou užitečného vzoru.

Velký potenciál vidím v poslední sekci, kde autor dokumentuje využití připravených cévních náhrad a demonstruje pilotní animální experimenty. V případě cévní záplaty připravené v popisovaných kultivačních systémech je jasně patrná remodelace a tvorba nové vrstvy *t. intimy* obsahující endotelové nebo endotelu podobné (CD31 pozitivní) buňky, jež jsou klíčovou součástí pro získání antitrombogenního povrchu.

V souhrnné diskuzi autor shrnuje dosažené výsledky a srovnává je s recentními publikacemi v oboru. Z uvedených výsledků je jasně patrný velký přínos využití kultivačních systémů, a to jak pro studium

chování buněk při definované zátěži, tak i pro přípravu nových tkáňových náhrad pro potenciální využití v regenerativní medicíně.

Zpracování textu i příloh je velice přehledné a pečlivé. Věty jsou formulovány srozumitelně a na dobré jazykové úrovni. Po formální stránce je předložená dizertační práce v pořádku.

Autor dosáhl stanovených cílů disertační práce, experimentálně prokázal funkčnost navržených technických řešení. Výsledky práce prokazatelně přispívají k vývoji tkáňových a orgánových náhrad připravovaných *in vitro* včetně možnosti jejich *in vivo* využití.

V předložené práci je citováno 129 původních prací mající vztah ke zpracované tématice, přičemž další desítky zdrojů se nachází ve člancích autora. Citované publikace, převážně zahraniční, jsou zaměřené jak na biologická, tak technická témata. Většina prací je aktuálních, tj. publikovaných za posledních deset let. Odkazy na literaturu jsou řádně zpracovány.

Positivně lze hodnotit i fakt, že práce vznikla ve spolupráci několika institucí a realizace byla podpořena několika granty, z čehož je patrné, že práce nevznikla samoúčelně a je v současném poznání aktuální. Autor je spoluautorem 13 publikací v impaktovaných časopisech, z toho k disertační práci se přímo vztahuje 5 článků, z nichž v jednom je prvním autorem, 6 užitečných vzorů a 3 kapitoly v knihách. Dále je spoluautorem několika konferenčních příspěvků a článků v recenzovaných časopisech. Autor tak značně převyšuje běžné nároky kladené na publikační činnost doktoranda.

Na základě dlouhodobé výzkumné práce v oboru, mnoha zkušeností s návrhem technických zařízení i na základě vysoké úrovně disertační práce i přiložených publikací konstatuji, že doktorand prokázal hluboké znalosti v daném oboru a je schopen týmové vědecko-výzkumné práce.

Otázky k diskuzi:

- 1) Při přípravě decelularizovaných matric (perikardy a karotidy) je uveden postup sterilizace využívající 70% roztok ethanolu. Je tento postup vhodný i pro následně klinické použití? Máte ověřenou tuto metodiku z hlediska příslušných norem?
- 2) Zvažovali jste i jiný typ buněk než kmenové/stromální buňky z tukové tkáně pro osídlení připravených konstruktů pro následnou implantaci, např. primární buňky endotelu nebo hladkého svalu?

Disertační práce Ing. Romana Matějky splňuje požadavky, které jsou na takovou práci kladeny. Autor prokázala tvůrčí schopnost a předpoklady pro samostatnou vědeckou práci.

Předloženou práci doporučuji k obhajobě a na základě úspěšné obhajoby poté doporučuji udělení akademického titulu doktor ve zkratce Ph.D. dle § 47 Zákona o vysokých školách č.111/98 Sb.

V Praze dne 21. 2020

RNDr. Eugen Kvašňák, Ph.D.

