

Vážený pan  
prof. MUDr. Zdeněk Krška, DrSc.  
předseda oborové rady 1. LF UK

### Posudek na disertační práci s názvem „Biologické vlastnosti povrchů aloplastických materiálů“

**Autor:** MUDr. Rastislav Ballay  
**Pracoviště:** Ortopedická klinika 1. LF UK a FN v Motole  
**Študijní program:** Experimentální chirurgie  
**Školitel:** prof. MUDr. Ivan Landor, CSc.  
**Název práce:** Biologické vlastnosti povrchů aloplastických materiálů

#### 1. Formální zhodnocení práce:

Disertační práce (dále už jen DP) má celkem 91 stran, z toho 73 stran zaujímá vlastní práce. Seznam použité literatury a publikačních výstupů autora je uveden na 17 stranách. Dílo obsahuje 28 obrázků a 5 tabulek, je uveden i seznam zkratk a český a anglický abstrakt. Vlastní práce sestává ze čtyř oddílů:

- 1) Úvodu do problematiky
- 2) Popisu současného stavu poznání v oblasti biomateriálů používaných v endoprotetice, prevence infekce kloubních náhrad, antibakteriálních povrchových úprav biomateriálů
- 3) Experimentální části
- 4) Shrnutí výsledků práce

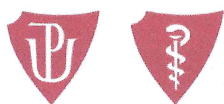
V seznamu literatury autor uvádí 244 odkazů, včetně prací českých autorů. Na některých místech jsou zbytečně uvedeny starší prameny, přestože existují nové zdroje (týká se jak popisu biomateriálů, tak infekce kloubních náhrad). Z jazykového hlediska je DP napsána srozumitelně a s minimem pravopisných chyb a překlepů. Přesto na několika místech mohla být formulace česky přesnější či vhodnější jako např. na s. 9: „*Společenská poptávka po trendu zvyšování kvality života ...*“ či na s. 18: „*Mezi nejvíce používané materiály, pro kluzné části totální endoprotézy v podobě keramické hlavice, patří alumina*“ anebo na s. 20: „*Model však bývá často kritizován (kým?), neboť bere v úvahu celou škálu zjednodušení, statické podmínky a vykazuje nízkou kapacitu pro predikci v konkrétním případě.*“ (pokud jde o překlad z angličtiny je správné uvést zdroj). Dále nebudu ve výčtu pokračovat, protože jde o jinak kvalitní vědeckou práci v biomedicině.

#### 2. Hodnocení „Teoretické části“:

V teoretické části DP je velmi stručně představeno téma kloubních náhrad, biomateriálů, infekce kloubních náhrad a zejména tvorba biofilmu. Účel teoretického úvodu byl nepochybně splněn. Autor čtenáře uvádí do problematiky biomateriálů používaných k výrobě kloubních náhrad, biofilmu a prevence jeho vzniku pomocí povrchových úprav. V tomto smyslu je mírně zavádějící název DP, protože biologické vlastnosti biomateriálů nelze redukovat na pouze antibakteriální.

Autor v úvodu DP explicitně stanovuje tři teze, které označuje jako hypotézy:

- 1) *Drsnost povrchu je určujícím faktorem při tvorbě biofilmu bez ohledu na typ materiálu.*



2) *Hodnocení citlivosti povrchu jednotlivých typů aloplastických materiálů vůči bakteriální kolonizaci s použitím pouze jednoho typu bakteriálního agens může být zavádějící, a proto je nutné ke komplexnímu hodnocení použít více typů bakteriálních izolátů.*

3) *Citlivost vůči kolonizaci je možné významně snížit nanesením farmakologicky aktivní vrstvy na povrch materiálů, které imitují složení a strukturu reálné kosti a jejichž osteointegrační potenciál je přes zvýšenou afinitu k infekci pro vývoj aloplastiky nepostradatelný.*

K teoretické části DP mám následující připomínky:

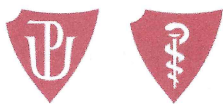
- Z porovnání četností TEP kyčlí v registru kloubních náhrad v roce 2004 a 2018 není možné odvodit nárůst incidence TEP kyčlí v ČR, protože se s registrem začínalo a zdaleka ne všechny operace do něj byly v roce 2004 zavedeny, zatímco v roce 2018 byla situace mnohem lepší (s. 8).
- Podobně nelze tvrdit, že incidence IKN je 0,99 % (s. 8) - lepší je uvádět interval, anebo údaj vázat na konkrétní pracoviště, registr či typ pacientů (např. u revmatiků se odhady uvádí vyšší, podobně mohou být vyšší také u dalších rizikových skupin a samozřejmě i nižší).
- V části pojednávající o nákladech na řešení IKN (s. 9) mohl autor zmínit tři studie publikované nedávno v našich Actech týkající se ČR.
- Nemůžu souhlasit s větou, která tvrdí, že v současné době jsou chromkobaltové slitiny využívány v případech variant kluzné části kov na kov (s. 16) – za prvé existují i další uplatnění pro tuto slitinu, za druhé se od kloubních párů kov na kov již před nějakou dobou ustoupilo.
- Velmi obtížnou etapu tvoří „přenesení“ experimentálních výsledků do klinické praxe, zde bohužel nestačí k „jasné aplikovatelnosti těchto výsledků v klinické praxi“ doplnění *in vitro* studií o *in vivo* testy, protože cesta k „lůžku nemocného“ (s. 39) je mnohem složitější ...
- Pod výčtem „hypotéz“ (s.11) pokračuje autor dole „Za hlavní cíl si tato DP klade potvrzení výše uvedených hypotéz ...“, a následně přikládá další dílčí cíle, „které mají přispět k potvrzení stanovených hypotéz.“ Hypotéza je tvrzení o podstatě určité situace (ideje, věci, problému) ve světě, výzkumem se hypotéza zamítá anebo potvrzuje na základě provedeného vědeckého výzkumu, kterým ji prověřujeme (testujeme). Nejspíše jde o nešťastnou formulaci, protože v části 4 DP autor píše, že „Cílem této disertační práce bylo potvrdit či vyvrátit vytyčené hypotézy, a to pomocí ...“. Podobně nesprávná je formulace dílčího cíle na s. 12 ... „vytvoření korelace mezi fyzikálními vlastnostmi a výsledky testů biologického hodnocení (in vitro).“ Korelace se nevytváří a není ani cílem ...

### 3. Hodnocení experimentální práce:

Cílem první studie bylo stanovit *in vitro* „odolnost“ 14 typů nejčastěji užívaných aloplastických materiálů (kovových, polyetylenových a keramických) vůči bakteriální kolonizaci (5 nejčastějších bakteriálních původců – *St. aureus* (dále STAU), *St. epidermidis* (dále STAE), *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus faecalis*, *E.coli*).

K testům byly použity terčíky o průměru 5 mm a výšce 1,5 mm, šlo o materiály, které jsou používány k výrobě implantátů (Medin Orthopaedics). Farmakologicky aktivní vrstvy byly připraveny elektrostatickým zvlákněním roztoku kolagenu, hydroxyapatitu a oxidu polyetyleny (78-87 % kolagenu; 5-15 % hydroxyapatitu a 6,8-7,6 % polyetyleny). K testování antibakteriálního účinku elektrostaticky zvlákněných vrstev byly použity 4 klinické izoláty odebrané při operaci infekce kloubních náhrad: MRSA, gentamicin-rezistentní STAE, gentamicin-citlivý/rezistentní *Enterococcus faecalis* a diskové difuzní testy. Mikrobiální aktivita elektrostaticky zvlákněných vrstev na bázi kolagenu/ hydroxyapatitu byla hodnocena na základě





přítomnosti či absence inhibičních zón. Jako pozitivní kontrola sloužily standardní kontrolní disky obsahující vankomycin a gentamicin. Použité metody odpovídají cílům studie.

#### Výsledky:

- 1) Autor DP prokázal, že jeho tým je schopen stanovit drsnost testovaných biomateriálů (tabulka 5, s. 53).
- 2) V DP je pro jednotlivé materiály, resp. jejich různé drsnosti stanovena adheze testovaných bakterií z výsledné absorbance výluhů po kolonizaci jednotlivých bakteriálních agens (obr. 15-23). Z experimentů rezistence vůči bakteriální kolonizaci vyplývá, že nejlépe na materiály adheruje STAE, resp. s narůstající drsností adherují lépe a lépe i STAU a další druhy, nejhůře adheruje *E.coli*.
- 3) STAE nejhůře adheroval k povrchu z titanové slitiny s hydroxyapatitovým plazmatickým nástřikem a na leštěných keramických a polyetylenových površích; *P.aeruginosa*, *E. coli* a enterokok adherovali nejlépe na povrchu z titanové slitiny s hydroxyapatitovým/TiO<sub>2</sub> plazmatickým nástřikem, resp. na materiálech s nejvyšší povrchovou drsností. STAU kolonizoval špatně leštěný polyetylenový povrch.
- 4) Všechny testované vzorky nosiče antibiotik z kolagenu a hydroxyapatitu s obsahem vankomycinu a gentamicinu byly srovnatelné anebo lepší nežli pozitivní kontrola bez ohledu na koncentraci hydroxyapatitu a další parametry. Zvláště zajímavé bylo testování gentamicin-rezistentních kmenů, kdy nové nosiče s antibiotiky vykazovaly inhibiční zóny od 16 do 21 mm (!!), zatímco kontrolní disky pouze od 5 do 10 mm. Výsledky jsou následně uvedeny do literárního kontextu ve strukturované a přehledné diskusi.

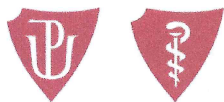
#### 4. Souhrnný závěr DP:

Autor potvrdil dvě ze tří „testovaných“ hypotéz a zejména poslední výsledek je vynikající a snese mezinárodní srovnání.

- 1) Předložená DP prokázala těsný vztah mezi drsností biomateriálů používaných k výrobě kloubní náhrad a jejich odolností vůči bakteriální kolonizaci pouze u některých bakteriálních druhů a nejde samozřejmě o lineární závislost. Premiantem v adhezi je STAE. Pro kmeny *P.aeruginosa*, *E.coli* a enterokoky je rozhodujícím faktorem povrchová drsnost a nikoli chemické složení materiálu. V případě STAE a STAU hraje sice také určitou roli, ale ne tak výraznou. Tyto druhy relativně dobře adherují na všechny testované typy materiálů a kolonizace je tedy zřejmě ovlivněna i dalšími faktory, včetně chemického složení biomateriálu. Překvapivým výsledkem je odolnost leštěného polyetylenu vůči bakteriální kolonizaci.
- 2) Autor prokázal „správnost“ testování několika bakteriálních druhů, resp. klinických izolátů – závěry nelze činit na základě testování s jedním či dvěma bakteriálními druhy, protože rozdílné agens má odlišnou patogenní strategii, včetně adhezního potenciálu.
- 3) Velmi cenným výstupem mezioborového výzkumu, na němž se petent podílel, je vývoj osteokonduktivního kompozitního nanovláčenného nosiče na bázi kolagenu a hydroxyapatitu. Tento materiál by se měl navázat na zdrsňený titanový povrch implantátu, a tak ochránit před bakteriální kolonizací „mrtvý“ prostor mezi endoprotézou a kostním lůžkem. Nejcennějším produktem výzkumu je aktivní antibakteriální vrstva obsahující vankomycin+gentamicin určená k pokrytí povrchu bezcementových implantátů.

#### 5. Závěr hodnocení:

- a) **Aktuálnost zvoleného tématu:** Dr. Ballay si vybral téma, které je odborně mimořádně významné. Podíl infekcí na příčinách reoperací kloubních náhrad je vysoký a výzkum v této oblasti je vysoce žádoucí.
- b) **Splnění zadaných cílů:** Všechny stanovené cíle byly dosaženy.



- c) **Použitá metodika:** Metody zpracování dat odpovídají typu použitých studií.
- d) **Vyjádření k výsledkům disertace s uvedením, jaké nové poznatky DP přinesla:** Nejdůležitějším poznatkem je zpřesnění našeho poznání v oblasti pasivní a aktivní odolnosti biomateriálů vůči bakteriální kolonizaci, a především vývoj vlastního antibakteriálního povrchu.
- e) **Vyjádření k významu pro společenskou praxi nebo další rozvoj vědy:** Předložená DP přispívá k rozvoji biomateriálové vědy, konkrétně k pokroku na poli anti-infekčních povrchů.
- f) **Dotazy na petenta:**
1. Jak daleko má aktivní vrstva, na jejímž vývoji jste se podílel, k převedení do klinické praxe?
  2. Ve své práci uvádíte, že vůči bakteriální kolonizaci nebyl příliš odolný keramický povrch. V literatuře se před časem objevily studie, které naznačují, že by TEP kyčle s keramickými povrchy mohla být odolnější vůči infekci kloubní náhrady ve srovnání s ostatními kloubními páry. Můžete se pokusit o komentář před oborovou radou?

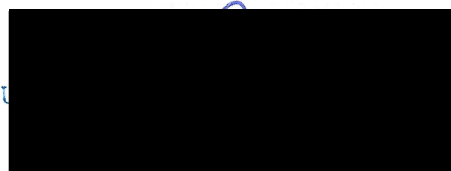
#### Nestrukturovaný závěr posudku:

Dr. Ballay zpracoval téma prevence infekce kloubních náhrad z pohledu povrchové úpravy biomateriálů používaných k výrobě kloubních náhrad. Podle mého názoru zvolil téma velmi vhodně, protože IKN je stále velmi aktuální a ani nejmodernější preventivní opatření se neobejdou bez aktivní či pasivní ochrany povrchu implantátu. Kritické připomínky jsem vyjádřil v příslušných částech strukturovaného hodnocení, nepovažuji je však za natolik zásadní, aby snížily hodnotu předložené DP, resp. vědecké snažení petenta.

Předložená DP mimo jiné dokládá výjimečnost a vědeckou sílu I. ortopedické kliniky LF UK v Praze v oblasti infekcí kloubních náhrad. Autor během studia dosáhl pod vedením svého školitele mnoha vědeckých úspěchů. Podílel se na vzniku sedmi kvalitních publikací, které byly oponovány ve významných recenzovaných časopisech (*souhrnný IF je 19,136*). V neposlední řadě je autor vítězem Frejkovy ceny a jedním z držitelů mezinárodního patentu.

**Předloženou disertační práci hodnotím jako velmi dobrou. Dosažené výsledky jsou hodnotné a byly publikovány v odborných časopisech. Autor svou publikační a přednáškovou aktivitou prokázal, že je schopen samostatné tvořivé vědecké práce. Ze všech těchto důvodů doporučuji vážené oborové radě předloženou práci k obhajobě. Na základě úspěšné obhajoby může být předkladateli udělen akademický titul doktor se zkratkou Ph.D. dle § 47 Zákona o vysokých školách č. 111/98 Sb.**

V Olomouci dne 21. 9. 2021



přednosta prof. I. P. Pavlova  
I. P. Pavlova 6, 779 00 Olomouc  
prof. MUDr. Jiří Gallo, Ph.D.