

Univerzita Karlova v Praze  
1. lékařská fakulta  
Kateřinská 32, 121 08 Praha 2  
K rukám paní Mgr. Bc. Evy Charouzdové

### **Oponentský posudek dizertační práce**

**Autor práce: Joao Victor de Sousa Cabral, MD**

**Téma práce: Použití regenerativní medicíny pro rekonstrukce na povrchu oka: Léčba deficiencie limbálních kmenových buněk pomocí moderní buněčné terapie (Regenerative Medicine in Ocular Surface Reconstruction: Advancing Cell-Based Therapies for Limbal Stem Cell Deficiency)**

**Studijní program: Biologie a patologie buňky**

Předkládaná disertační práce zpracovává dvě problematiky. První téma zahrnuje přípravu buněčné terapie deficiencie limbálních kmenových buněk, druhé téma se týká léčby ran pomocí amniové membrány.

Disertační práce obsahuje rozsáhlý 143 stran původního textu, který je klasicky členěn (úvod, materiál metody, hypotézy a cíle, výsledky, závěry), a napsán velmi dobrou angličtinou. Obsah je dále doplněn o 81 stran příloh, které zahrnují jednak relevantní citace k tématu (323 celkem) a pět publikací zveřejněných v impaktovaných časopisech, přičemž Dr. Cabral je prvním autorem ve dvou případech. Jak je v práci uvedeno, další tři manuskripty jsou odeslány k oponentskému řízení či v přípravě.

Základní pojmy nastíněné v úvodu, spolu s hypotézami a cíli práce, jsou formulovány jasně a dostatečně pro vhled do problematiky. Práce je vhodně členěna do podkapitol, takže i přes to, že zpracovává paralelně dvě témata (příprava buněk pro léčbu deficiencie limbálních kmenových buněk, použití amniové membrány pro léčbu ran), je relativně dobře srozumitelná. Materiály a metody jsou detailně popsány, nebo je začleněn odkaz na zveřejněnou publikaci. Výsledky jsou podány srozumitelně, statistické metody jsou vhodně zvoleny. Diskuze odpovídá

náplni práce, stejně jako závěry. Text je doplněn 60 obrázky či schémata, která ilustrují problematiku a zvyšují srozumitelnost práce. Drobným nedostatkem je nejednotnost formátování legend použitých obrázků (např. obr. 19 je zbytečně veliký, ale použité zvětšení je relativně malé).

Hlavním cílem práce bylo navrhnout protokoly/postupy přípravy buněk k léčbě jednostranné i oboustranné deficiencie limbálních kmenových buněk. V laboratorních podmínkách byly hledány optimální postupy kultivace limbálních epitelových buněk a epitelových buněk z bukální sliznice (v obou případech izolovaných z dárcovské tkáně). Autor se soustředil zejména na vliv různých substrátů, složení médií apod. Dle údajů uvedených v práci budou získané výsledky předloženy Státnímu ústavu pro kontrolu léčiv a následně by měly být přeneseny do praxe tkáňových bank. Za velmi důležitou a velmi dobře zpracovanou považuji část věnovanou definování a charakterizaci kmenových buněk, jejichž přítomnost je z hlediska úspěšnosti transplantace klíčová. Inovativní je i použití nanovláčkových nosičů pro kultivace, i když předkládané výsledky neprokazují výhody oproti standardně používanému fibrinu. Podobně lze vyzdvihnout i úspěšné použití amniové membrány v léčbě ran, tj. její možné využití i mimo standardní oblast oftalmologické praxe.

Témata práce jsou velmi aktuální. Léčba deficiencie limbálních kmenových buněk, onemocnění, jehož léčba je velmi komplikovaná, je bez použití buněčné terapie prakticky neřešitelná. Tématu využití amniové membrány v léčbě ran je rovněž velmi aktuální. Jednotlivé studie práce mají významný dopad na použití regenerativní medicíny v preklinické a klinické praxi.

Příložená disertační práce a její výsledky dokazují autorovy velmi dobré znalosti zvolené problematiky, jeho schopnost správně definovat cíle, řešit překážky a zvolit správnou metodiku dalšího postupu. Výsledná data je schopen kriticky zhodnotit. Výsledky byly publikovány v kvalitních zahraničních periodikách. Řešená problematika je aktuální a přispívá významně do výzkumu léčby deficiencie limbálních kmenových buněk pomocí buněčné terapie a využití amniové membrány k léčebným účelům.

Předložené výsledky dokumentují schopnost autora připravit a prezentovat vědeckou práci, schopnost získávat a zpracovávat vědecké poznatky a navrhnout vlastní experimentální postupy. Práce má i významný klinický potenciál, pokud se podaří získané výsledky a v práci vypracované postupy použít pro léčbu konkrétních pacientů.

Předkládaná práce v plném rozsahu splňuje kritéria pro doktorskou disertační práci. Práce jasně prokazuje předpoklady autora k samostatné tvořivé vědecké práci a k udělení titulu "Ph.D."

Na autora mám následující otázky:

1. Proč se v popsanych experimentech používá na kultivaci limbálních buněk explantátová kultura, zatímco na kultivaci buněk z bukální sliznice buněčná suspenze?
2. Za určitý nedostatek práce považuji relativně málo experimentální práce využívající ke kultivaci buněk bukální sliznice amniovou membránu, která je i podle autora hlavním substrátem pro kultivaci. Místo amniové membrány používá autor jako substrát nejčastěji fibrinový podklad. Může autor tuto diskrepanci vysvětlit?
3. V jaké fázi se nachází zavádění použití buněčné terapie do tkáňových bank a kdy asi bude možné buňky použít v klinické praxi?

V Praze dne 15.9.2023

doc. MUDr. Gabriela Mahelková, Ph.D.

Oční klinika dětí a dospělých 2. LF UK a FN Motol