



UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE

MATEMATICKO-FYZIKÁLNÍ FAKULTA

Fyzikální ústav UK

Ke Karlovu 5, 121 16 Prague 2,

Czech Republic

Tel. (+420)-221911348

Fax (+420)-224922797

Email: gaskova@karlov.mff.cuni.cz



Univerzita Karlova v Praze

2. lékařská fakulta

Děkanát (5)

V Úvalu 84

150 06 Praha 5

V Praze dne 29. 4. 2015

Oponentský posudek disertační práce Mgr. Evy Prosecké
"Development of Scaffolds for Bone Defects Regeneration".

Mgr. Eva Prosecká vypracovala svoji disertační práci pod odborným vedením školitele Prof. RNDr. Evžena Amlera, CSc. Předkládaná disertační práce, která se zabývá vědecky i klinicky aktuální tematikou – regenerací rozsáhlých kostních defektů pomocí kostního tkáňového inženýrství, je na vysoké úrovni jak po stránce vědecké, tak formální. Celá disertační práce, která je sepsána v anglickém jazyce, odráží od samotného počátku a během tvůrčího procesu až po konečné písemné zpracování výsledků, nesmírnou pečlivost, trpělivost a houževnatost autorky, díky čemuž dosáhla vynikajících výsledků.

Hlavním cílem disertační práce byla optimalizace podmínek při vývoji nového typu kostního 3D nosiče (scaffoldu) s vysokým potenciálem pro klinické použití. Práce (147 stran včetně 31 stran tří příložených publikací) je členěna do dvou hlavních kapitol. V teoretickém úvodu je nejprve velmi srozumitelně pojednáno o složení, formách a typech kostí, o fyziologických procesech, které jsou obsaženy při jejich regeneraci, a rovněž o mechanických vlastnostech kostí včetně metod používaných pro měření těchto vlastností. Následuje přehled současných postupů při léčbě defektů kostí včetně limitace jejich použití. Velký důraz je kladen na nejnadějnější biomedicínskou technologii 21. století – tkáňové inženýrství. Základní strategií při generování nové tkáně je nasazení kmenových buněk na nosič, který podporuje proliferaci a diferenciaci kmenových buněk na specifické buňky. Ve zbylé části teoretického úvodu je výborně pojednána problematika týkající se vlastností nosičů a jejich přípravy, růstových faktorů a buněk v kostním tkáňovém inženýrství. Tato kapitola (27 stran) je sepsána velmi srozumitelně a fundovaně. Po jejím přečtení je i čtenář, který není expertem v tomto oboru, dobře obeznámen s problematikou a může bez jakýchkoliv problémů pochopit získané výsledky a ocenit jejich význam.

Experimentální část práce shrnuje ve třech podkapitolách výsledky tří příložených kvalitních publikací, které významným způsobem přispěly k rozšíření znalostí při léčbě

rozsáhlých kostních defektů. Jednotlivé podkapitoly jsou zaměřené na řešení cílů vytýčených v disertační práci, konkrétně: (a) nalezení optimálního složení pro kostní nosič, (b) funkcionalizace nosiče bioaktivními molekulami, (c) testování nosiče *in vitro* a *in vivo* a (d) návrh vhodného nosiče s potenciálem pro klinické použití.

Obvyklý způsob zařazení samostatné kapitoly "Materiál a metody" je zde vynechán; metody použité v jednotlivých částech práce jsou uvedeny separátně na začátku každé podkapitoly. Tento způsob zařazení experimentálních metod se mi zdá přínosný, protože usnadní čtenáři orientaci v jednotlivých výsledkových částech. Bez ohledu na formu, jakou jsou metody prezentovány v práci, je z jejich počtu zřejmé, kolik různých metod musela doktorandka v rámci své práce zvládnout.

Autorkou zvolený způsob členění výsledkové části se mi velmi líbí. V úvodu je podán stručný nástin problematiky a jasně definovány cíle jednotlivých částí práce. Výsledková část každé podkapitoly je uzavřena samostatnou diskusí a závěrem. Celá práce je pak zakončena závěrem a přehledem perspektiv oboru. V jednotlivých podkapitolách je uvedeno velké množství kvalitních výsledků, které bezesporu svědčí o nezměrném pracovním nasazení doktorandky. Kvalita všech získaných výsledků je velmi vysoká a jen stěží je možné rozhodnout, který z výsledků je ten nejdůležitější. O kvalitě a významnosti výsledků předložené disertační práce svědčí rovněž skutečnost, že tyto výsledky již byly publikovány ve význačných mezinárodních časopisech (*Journal of Biomedical Material Research – Part A* a *Journal of Biomedicine and Biotechnology*).

K práci nemám žádné kritické připomínky. Mám jen několik drobných poznámek a dotazů, které nijak neubírají na kvalitě předkládané disertační práce.

Poznámky:

- V seznamu zkratk chybí zkratka OC (*osteocalcin*) a BS (*bone sialoprotein*).
- Na straně 49 je špatné značení obrázku (mělo by být Figure I/3).
- Na straně 79 (5. řádek zdola) je ponechán text nesouvisející s popisovanou metodou
- Na straně 85 chybí v textu vysvětlení k obrázku III/1e-h a odkaz na něj.
- Jen malá poznámka k názvu kapitol v experimentální části. Označení kapitol jako EXPERIMENT I, II a III může vést k mylné představě, že byly provedeny jenom tři experimenty během celého studia. Navrhovala bych jednotlivé části pojmenovat jinak, např. STUDIE I, II a III.
- Mám jednu poznámku týkající se zdůraznění významu výsledků dosažených v části označené EXPERIMENT I. Na základě provedených experimentů byl pro přípravu nejvhodnějšího nosiče vybrán poměr kolagenu a hydroxyapatitu ve směsi: 0,5% Col/50% HA. Možná by nebylo na škodu v diskuzi podrobněji rozebrat důvody, které k výběru tohoto poměru vedly (podobně jako je to uvedeno v příslušné publikaci).

Dotazy:

- Moje první dva dotazy se týkají nosičů obohacených polykaprolaktonovými nanovláknky:
 - Jak byla tato nanovláknka vpravena do pěny?
 - V čem je tento nosič jiný, že splňuje pravidla po klinické použití?
- Moje druhá série dotazů se týká testování tohoto nosiče *in vivo*:
 - Proč jste si pro testování vybrali zrovna králíka?
 - Má podobnou strukturu kosti jako člověk?
 - Jaký tip kosti jste testovali a proč?
 - Prováděla jste osobně také chirurgický zákrok a implantaci nosiče?
 - Byl by tento nosič vhodný i pro regeneraci kostních defektů u starších pacientů, u kterých je zhoršená schopnost hojení?

- *Poslední zvědavý dotaz. Víím, jak složité je schválit terapii založenou na buňkách, i z pohledu kancerogeneze. Uvažovali jste i o bezbuněčném přístupu?*

Závěrem s přesvědčením prohlašuji, že disertační práce Mgr. Evy Prosecké významně přispěla k rozšíření a dalšímu vývoji vědního oboru a tím přesvědčivě prokázala její schopnost k samostatné vědecké práci. Vřele doporučuji, aby po úspěšné obhajobě byl Mgr. Evy Prosecké udělen vědecký titul PhD.

Doc. RNDr. Dana Gášková, CSc.
Vedoucí oddělení biofyziky FÚ UK
Matematicko-fyzikální fakulta UK