



## Posudek doktorské dizertační práce

Dizertant: **MUDr. Petr Lesný**

Název práce: **Využití makroporézních hydrogelů na bázi 2-hydroxyethylmethakrylátu k přemostění míšní léze.**

Předložená dizertační práce spadá svým vědeckým obsahem do oblasti regenerativní medicíny a tkáňového inženýrství. Specificky se zaměřuje na spektrum otázek spojených s možným podpurným terapeutickým efektem biokompatibilních trojrozměrných nosičů při jejich aplikaci do poškozeného CNS. Toto téma je bezpochyby vědecky a zejména klinicko-medicínsky velmi atraktivní a zaslouží si extenzivní zkoumání. Tohoto se dizertant zhostil veskrze solidně a výsledky svého zkoumání velmi přehledně a vyčerpávajícím způsobem ve své dizertační práci představuje.

Dizertační práce má klasické členění - velmi oceňuji, že obsahuje všechny potřebné informace pro porozumění všem dílčím tématům a výsledkům, a není pouze dnes oblíbeným souborem stručně komentovaných prací. Tyto jsou jako patřičná příloha na konci dizertační práce. Naopak, v práci je věnován dostatečný prostor popisu současných poznatků a východisek, na jejichž základě jsou pak na straně 32 formulovány jednoznačné a uchopitelné cíle dizertační práce. Následuje oddíl popisující v dostatečném detailu metodické přístupy a použité materiály, a práce kulminuje výsledkovou a diskusní částí, zabírající společně více jak 50 stran. Práce je psána čtivou a dobře srozumitelnou češtinou a je zcela prostá formálních chyb. Obrazová dokumentace je v kvalitě odpovídající danému typu práce.



Jako nejvýraznější pozitiva práce mohu jmenovat: celkově velmi systematický přístup k řešení otázek, mnohá inovativní řešení (například měření difúzních vlastností TMA iontoforézou), či velmi zjevný postupný progres v modifikaci metod a analýz založený na pozorování biologických a biochemických procesů (úprava volba materiálů a jejich úpravy - nanovláknna, procentuální modifikace kopolymerů, časování implantace hydrogelů ve fázi max. hydratace). Celkově práce přinesla mnoho nového a posunula zásadním způsobem poznání v jí pokryté oblasti vědy a výzkumu.

K dizertační práci mám následující komentáře, dotazy a poznámky do diskuze:

- Str.24. - V roce 2006 byla definována minimální kritéria pro klasifikaci MSC. Jedním z kritérií je adhezivní vlastnost MSC. Byly však zde použité buňky charakterizovány také některým z typických povrchových znaků? Či byla posouzena jejich diferenciační kapacita?
- Co znamená hydrogely nesoucí “nestíněný” kladný povrchový náboj hydrogelu? Jaký je stíněný? (coaxial, colaminar, cosferoid?)
- Obr. 4.14.-4.15. – Pro příští práce doporučuji použít negativní zobrazení, bylo by zřetelnější.
- Obr. 4.16. - Jedná se o jednotlivé buňky nebo o shluky? Co je důvodem k migraci MSC do sousedních pórů, resp. na čem je založena tato domněnka - str.61? Ze zkušenosti - dělí se MSC vytváří shluky v rámci pórů, zvláště na neadhezivním materiálu.
- Obr. 4.19 - Z obrázku ani textu není zcela zřejmý okraj hydrogelu – následně není zřejmá korelace s grafem na obr. 4.20 – odkud kam vrostly astrocyty?
- Obr. 4.21. - Výběžky jsou obtížně viditelné v kombinaci s procházejícím světlem.
- Proč nebyly pro nábojovou modifikaci použity hydrogely HPMA, které vypadaly pro buňky přijatelnější než HEMA-MA – degradace? Je HPMA (NeuroGel) „golden standard“ na trhu?
- Lze biologicky vysvětlit důvod vrůstání GFAP+ astrocytů *in vivo* na záporně nabitě povrchy oproti kladným? Co může být důvodem vrůstání axonů a ne gliových buněk do materiálů negativně nabitých a nemodifikovaných?
- Kapitola 4.14. - V metodách chybí popis izolace/kultivace astrocytů.
- Byl při osazení materiálů MSC (kap. 4.6. a 4.11.) zkoumán také vliv na jejich diferenciaci? Byly takto osídlené materiály implantovány k posílení propojení proximálních a distálních axonů? Jaký byl vliv osídlením astrocyty? Disertant naznačuje, že by to mohlo být prospěšné – činí tak na základě vlastních dat?
- Str. 82. kap. 4.16. - Proč nebyly použity HEMA-HPMA, ale EOEMA-HPMA? Jaká je výhoda?

- Str. 89. - Při použití 29% EOEMA-HPMA bylo dosaženo nejlepšího vrůstání neurofilament po 1 měsíci. Bylo toto možné pozorovat také na fyziologických funkcích potkana?
- Obr. 4.43. - Lze blíže charakterizovat buněčné složení tkáně v degradovatelných kopolymerech? Do jaké míry jsou přítomny fibroblasty, či jiné buňky remodelující danou oblast?
- Str. 91, Obr. 4.47. - Na panelu E je kompaktní tkáň, avšak u MRI (G) je viditelná kavita – rozdílná intenzita v místě aplikovaného hydrogelu – proč tomu tak je?
- Běžně se mezi vlastnostmi biomateriálů kromě porozity, tortuozity (neběžně), náboje, a míry botnání (swelling index/water uptake capacity), uvádí také hydrofobicita. Bylo možné tyto údaje rozšířit u daných materiálů např. měřením kontaktního úhlu? Pro možnost srovnání s jinými typy materiálů z hlediska atraktivity pro adhezi buněk/axonů.

Výše uvedené poznámky nijak nesnižují kvalitu dizertační práce. Vzhledem k jejímu širokému záběru a složitému tématu by bylo jistě možné položit stovky dalších. Je však bezpochyby více než jisté, že také k jejich zodpovězení by se Dr. Lesný postavil se stejnou vědeckou erudicí.

Jakkoli mým primárním úkolem bylo zhodnotit kvalitu dizertační práce, nemohu pominout komentář ke kvalitě autorem publikovaných výstupů, které jsou přímým podkladem práce. Celkem se jedná o 7 článků v časopisech (na dvou z nich je Dr. Lesný prvním autorem a na třech je druhým autorem) a dva české patenty. Součet IF všech sedmi prací je 15,528 a byly již celkem 235x citovány. Kromě těchto je Dr. Lesný prvním autorem či spoluautorem dalších 18-ti prací v recenzovaných periodících. Souhrnně tuto vědeckou produkci považuji za úctyhodnou a bezpochyby velmi dobře dokládající širokou vědeckovýzkumnou aktivitu dizertanta.

**Celkově hodnotím předloženou dizertační práci jako zdařilé dílo vysoké vědecké i formální kvality, které lze plně doporučit k obhajobě a na jehož základě lze disertantovi udělit titul Ph.D.**

doc. MVDr. Aleš Hampl, CSc.

Přednosta Ústavu histologie a embryologie

v Brně dne 6. června, 2016