

Oponentský posudek na doktorskou disertační práci Mgr. Martina Plencnera

Nanofiber Scaffolds for Incisional Hernia Regeneration

Předložená dizertační práce je věnována výzkumu zaměřenému na vývoj nového typu podpůrných sítěk pro operace břišní kýly, což je téma významné jak z hlediska aplikací v klinické praxi, tak i z hlediska teoretického, neboť se souvisí s využíváním nanovláken v tkáňovém inženýrství. Z hlediska použitých metod se jedná o práci široce koncipovanou, zahrnující metody spadající do řady značně odlišných oborů – od přípravy nanovláken k *in vitro* k analýze interakce PP sítěk pokrytých nanovláknem s buňkami a nakonec až ke studiu vlivu těchto sítěk na hojení chirurgických řezů v břišní stěně pokusných zvířat.

Práce sestává ze 41 stránek úvodu (1 stránka se rovná zhruba jedné normostraně), 23 stránek věnovaných použitým metodám a materiálům a 28 stránek s výsledky, jejichž diskuse je na dalších 7 stránkách. V práci je citováno celkem 246 referencí a její součástí jsou také kopie tří prací dizertanta, které byly publikovány v odborných časopisech. Úvod je sepsán přiměřeně srozumitelně. Pasáž věnovaná popisu různých typů kýly (10 stránek) však zabíhá do detailů, které jsou irelevantní pro práci věnovanou tkáňovému inženýrství. Druhá polovina úvodu, počínaje kapitolou 1.3.2, resp. 1.4, je pak již zcela relevantní. Snad jen při výkladu metody elektrostatického zvlákňování mohl autor zmínit typické hornoty používaného vysokého napětí a již v rámci úvodu mohl také zdůraznit, kterou metodu používal a proč.

Popis použitých metod a materiálů, stejně tak jako prezentace vlastních výsledků a jejich diskuse jsou pak v podstatě jen stručným výtahem ze tří publikovaných prací. K této části práce mám bohužel velkou řadu dílčích připomínek a dotazů, které následují níže.

Dílčí dotazy a připomínky (řazené průběžně podle pořadí příslušných partií práce) jsou tyto:

kap. 1.6.2 – Název této kapitoly budí dojem, že „platelet“ je něco jiného než „thrombocyte“. Proč akronymy PRP a TRS vycházejí z alternativních názvů téže buňky? U koncentrace 0.5×10^{11} platelets per unit chybí definice „unit“.

kap. 3.1- Zarazilo mě, že v této kapitole není uvedený žádný solidní SEM snímek pokrytí PP nosiče nanovláknem. Na Fig. 21C jsou nanovláknena snad vidět, nikoli však přesvědčivě. Chybí zmínka, co představuje kompaktní kulový (kruhový?) objekt bez PP vláken, který zabírá cca třetinu snímku.

kap. 3.1.1 – Popis přípravy nosičů pokrytých nanovláknem je nedostatečný. Teprve o stránku dál se čtenář zjistí, že chybějící informace jsou součástí popisu Fig. 15.

p. 57 – Bylo skutečně nutné centrifugovat suspenze krevních destiček po dobu 15 min při 2000g. Podle mých zkušeností sedimentují prakticky okamžitě.

kap. 3.1.6 – Jaký význam má použití propidium jodidu k detekci adheze buněk k nosiči, když toto barvivo do živých buněk nevstupuje?

kap. 3.2.4 (plus veškerý text věnovaný mechanickým vlastnostem tkání) – „Maximum strength force per square unit“ se běžně nazývá „tensile strength“, neboli „pevnost v tahu“. Co znamená termín „elasticity in traction“? Jedná se o „tensile modulus“ neboli „modul v tahu“, resp. Youngův modul? Proč se termín Youngův modul objeví poprvé až na str. 91? Domnívám se, že termín „tensiometer grips“ je běžnější a správnější než „tensiometer branches“

p.105 – DiOC₆ nebarví buněčné membrány. Jedná se o lipofilní kationické barvivo, které vstupuje do cytoplasmy. Stejná chyba je též v práci Knotek et. al. 2012 na str. 1373. Jaký dopad může mít tento fakt na interpretaci souvisejících výsledků?

Popisy obrázků Fig. 22 – 24 jsou velmi nesrozumitelné, co se informace o statistické významnosti rozdílů mezi jednotlivými sloupci týká. Je to mimo jiné též kvůli tomu, že v rámci zavedené konvence,

kteřou autor nerespektoval, se symbol * používá pro $p \leq 0.05$, zatímco pro $p \leq 0.001$ se používá symbol ***.

Tyto obrázky by také byly mnohem srozumitelnější, pokud by autor navíc použil osvědčený způsob se šikmo orientovanými popisy pod jednotlivými sloupci.

p.90 – Místo „proportional elongation value“ má být „extensional strain“, nebo prostě „strain“.

p.91 – Existuje rozpor mezi textem na konci této stránky a Fig. 28.

Fig. 34 – Nenašel jsem, jaké byly podmínky barvení kolagenu barvivem Picrosirius Red? Proč byla použita polarizační mikroskopie?

Fig. 36 – Nemyslím si, že by tři snímky zde presentované mohly být podkladem pro jakékoli smysluplné tvrzení.

Autoreferát, str. 17 – Cituji: „Only significant findings and findings close to significant values are reported“. Co se tímto myslí?

Práce je sepsána anglicky na celkem solidní jazykové úrovni. Několik anglických formulací je mírně matoucích. Viz např. druhou větu popisu Fig. 15. Také termín General Teaching Hospital se jeví jako výsledek získaný pouze pomocí Google Translator. Na webu VFN Praha stojí General University Hospital. Místo „passing through light microscopy“ má být „transmitted light microscopy“.

I přes výše vypsaneé připomínky přináší předložená disertační práce řadu nových zajímavých poznatků směřujících k vývoji nových podpůrných sítěk pro operace kýly. Dovolím si však konstatovat, že jsem v diskuzi a závěru postrádal explicitní vyjádření týkající se toho, a) které experimenty realizoval autor zcela samostatně a jaký byl jeho podíl na experimentech týmových (např. pochybuji, že histologické analýzy jsou jeho vlastním dílem, stejně tak zřejmě neoperoval experimentální zvířata), b) jaký je stupeň dosaženého pokroku oproti příbuzným pracem jiných autorů, které autor citoval v rámci diskuse (zejména oproti práci Ebersole et al., 23012). Uvítal bych, kdyby odpověď na tyto dvě otázky byla zahrnuta již do přednášky, která bude součástí obhajoby. Je také třeba, aby se autor vyjádřil k triviálnímu faktu, že rozdíly statisticky významné nemusí zcela automaticky představovat také rozdíly významné z praktického hlediska, a zhodnotil praktický význam dosažených výsledků. Věřím, že autor se se všemi mými dotazy a připomínkami dokáže během obhajoby úspěšně vyrovnat.

Na závěr konstatuji, že z předložené práce vyplývá, že Mgr. Martin Plencner má předpoklady k samostatné tvořivé vědecké práci. O kvalitě přiložených publikací svědčí to, že úspěšně prošly cecenzním řízením v solidních zahraničních odborných časopisech. S přihlédnutím k výše uvedeným skutečnostem **navrhují, aby na základě předložené disertační práce byla po úspěšné obhajobě Mgr. Martinu Plencnerovi udělena vědecko-akademická hodnost Ph.D.**

V Praze dne 28. 8. 2015

Prof. RNDr. Jaromír Plášek, CSc.