

**Univerzita Karlova**  
**1. lékařská fakulta**  
**Ústav dědičných metabolických poruch**  
**přednosta: Prof. MUDr. Viktor Kožich, CSc.**  
Pracoviště B  
Ke Karlovu 2  
128 08 Praha2  
tel.: +420 224 967 679  
fax: +420 224 967 119

**Oponentský posudek na disertační práci Mgr. Ivany Kopové**

**nazvané „Biokompatibilita a potenciální cytotoxicita materiálů na výrobu a pokrývání totálních endoprotéz.“**

Předložená disertační práce je psána anglicky zkrácenou formou tzn. po literárním přehledu následují krátké statě týkající se cílů, metod, výsledků a diskuze a jako základ práce je přiloženo 5 publikací. Celá práce má rozsah 58 stran včetně seznamu literatury a 5 přiložených publikací. Práce začíná vysvětlením, čím se zabývá kostní tkáňové inženýrství a pokračuje přehledem znalostí o různých materiálech, které se používají v ortopedii na výrobu nebo pokrývání různých kostních náhrad.

Přehled je napsán pěkně a čtivě, ale týká se vlastně pouze popisu materiálů, které studentka ve své dizertační práci nevyrábí, ale testuje *in vitro*. Takže bych v úvodní části takovéto práce čekala převážně přehled biologického charakteru (ve vlastní práci se zabývá např. adhezí buněk, jejich proliferací a diferenciací, což jsou fenomény, které by měly být popsány v úvodu ve vztahu k materiálům).

Následují vytčené cíle, kdy hned první cíl – Developing a biocompatible beta titanium alloy ... mi nepřijde dobře vytčen, protože studentka ve své práci nevyvíjí nový materiál, ona „pouze“ testuje jejími spolupracovníky vyvinutý materiál v buněčné kultuře. Ostatní cíle už lépe vystihují její vlastní práci.

Materiálová a metodická část je napsána velmi stručně s odkazem na vlastní přiložené práce. Použité metody ve zkratce jsou – počítání buněk v různých časech, měření absorbance barvičky detekující metabolickou aktivitu buněk, imunofluorescenční barvení buněk a mikroskopie, průtoková cytometrie, použití XCELLigence systému a měření kontaktních úhlů na materiálech. Osobně se domnívám, že pro postgraduální studium pod hlavičkou oborové rady Molekulární a buněčná biologie, genetika a virologie, je tato paleta 6 použitých metod trochu chudá.

Následuje výčet přiložených publikací, které se týkají dané dizertační práce, kde je u tří již publikovaných prací studentka prvním autorem a z toho i dvakrát korespondujícím autorem. Je tedy zřejmé, že se studentka nejenom podílela na výsledcích ale i významně na přípravě a sepsání těchto výsledků do publikací. Dále je přiložena práce, která byla odeslána k recenzi a tam je studentka také prvním i korespondujícím autorem, což jen podtrhuje komplexnost studentky. Výčet uzavírá práce, kde je členkou autorského kolektivu. Všechny příspěvky byly publikovány v impaktovaných časopisech s impakt faktorem mezi 1,5 a 3,2, což je velmi pěkné. Do výčtu autorčiných literárních počínů ještě patří spoluúcast na souhrnném článku o kostních buňkách a uhlíkových nanomateriálech a na dvou kapitolách v knize s podobným tématem, což jistě svědčí o schopnosti studentky pracovat s informacemi a jejich dalším uplatněním.

Sekce Výsledky je napsána formou „kopírování abstraktu z publikovaných článků“, kde se studentka zmiňuje o obsahu daného článku, ale většina textu se týká materiálu a ne

studentkou prováděné biologické studie. Výsledkům v každém článku věnuje tak půl až jednu stranu, což není mnoho.

Po těchto stručných kapitolách jsem očekávala, že se studentka rozepíše alespoň v části diskuse, ale na využitých 4,5 stranách k rozsáhlé diskusi o studentkou dosažených biologických výsledcích nedošlo. Větší část textu opět zaujímá popis materiálů a práce s nimi.

Shrnutí práce je napsáno přehledně a jasně a popisuje výsledky dosažené v publikovaných pracích.

Co se týká vlastní „biologické“ práce na daných tématech, tak bylo provedeno velké množství experimentů, které určitě nebylo možno jednoduše interpretovat, ale povedlo se, což dokazují přiložené publikace z recenzovaných časopisů. Tím chci říct, že studentka určitě odvedla spoustu kvalitní práce, kterou i úspěšně „prodala“, ale do dizertace by to měla prezentovat jinou formou, kterou by jasně ukázala svůj vlastní přínos.

Předložená práce je ale jasně členěná a strukturovaná, jen bych lehce vytkla formátování jednotlivých odstavců, kdy trošku větší řádek mezi odstavci úplně neplní optické odlišení odstavců jako by plnilo běžné odsazení prvního slova odstavce. V části příloh se mi ještě nepodařilo najít obrázky se Supplements u článku v časopise PLOS One, i když popisy legend tam jsou.

Z komentářů a otázek, které jsem si při čtení poznamenala, vybírám:

1. Liší se obsah fullerenu ve vzorcích fullerennového filmu z článku II a fullereno-titanového filmu z článku III? Není v druhém případě na povrchu filmu méně fullerenu, a tudíž by to mohlo mít vliv na větší biokompatibilitu fullerenn-titanového filmu?
2. Jak si vysvětlujete, že v článku II v obrázku 10 je metabolická aktivita u čerstvého filmu z fullerenu pouze 30% kontroly, zatímco v obrázku 11 ukazujete životaschopnost (viabilitu) buněk na tom samém materiálu a v tom samém čase kolem 90%? V textu píšete, že v podstatě metabolická aktivita ukazuje množství buněk.
3. Ve článku III v obrázku 7 máte snímek buněk kultivovaných na jeden rok starém filmu z fullerenu s vysokým obsahem titanu, kde je podle mého názoru hodně mrtvých buněk (plovoucí debris) nebo nějakých sraženin, které úplně překrývají pohled na buňky přisedlé. S tímto obrázkem by měl korespondovat graf B v obrázku 6, kde ale počet buněk na tomto vzorku není výrazně odlišný od jiných vzorků a navíc je tam nalezeno více buněk než na vzorku s čerstvou vrstvou. Jak si to vysvětlujete?
4. V přiloženém manuskriptu v obrázcích 4 a 5 ukazujete data získaná z přístroje xCELLigence. Jsou rozdíly mezi jednotlivými sloupci signifikantní? Co je to přesně cell index?
5. Ve článku IV ukazujete data měřená na vytvořeném nanodiamantovém senzoru ve srovnání s daty měřenými na komerčním xCELLigence přístroji po dobu 16 h (obrázek 3). V obrázku 2 ukazujete fotky buněk na obou těchto senzorech, ale v čase 50 h a 70 h. Jak vypadaly buňky na senzorech v čase, po který se ale měřily na senzorech (myslím tím v 16 h)? Byly v tomto čase nějaké buňky naseté v nižší koncentraci i na H-terminovaném povrchu, který je tou aktivní elektrodou? Nebo byly buňky pouze na O-terminovaném povrchu a tudíž se přesně neví, co senzor měřil?

Celkově je práce dobře strukturovaná, přehledná a příjemně čitelná, ale pojednává spíše o materiální podstatě různých projektů, na kterých spolupracovala studentka bioložka s partnery z chemie, fyziky nebo materiálních věd. Její úloha v publikovaných člancích byla ohodnotit nově připravené a vyvinuté materiály z hlediska biokompatibility buněk, což studentka zvládla na výbornou, ale v předložené dizertační práci tyto své kvality dostatečně neprezentuje.

Nehledě na drobné připomínky, které spíše znamenají, že jsem si práci přečetla se zájmem a že mě svým způsobem i obohatila, práci doporučuji k přijetí k obhajobě.

30. listopadu 2016 v Praze

Marie Hubálek Kalbáčová