

## Oponentský posudek disertační práce

### Název práce: Kmenové buňky zubní pulpy

Autor: MUDr. Jakub Suchánek  
Univerzita Karlova v Praze  
Lékařská fakulta v Hradci Králové

Oponent: Prof. MUDr. Martina Kukletová, CSc.  
Stomatologická klinika  
Lékařská fakulta MU Brno

Disertační práce MUDr. Jakuba Suchánka má celkem 73 stran, další 4 strany zaujímá přehled použité literatury. Práce je doplněna celkem 36 obrázky, 23 grafy, seznamem vlastních publikací a udělených grantů. Na konci disertační práce je uveden seznam použitých pracovních postupů a laboratorních protokolů.

V úvodu své práce podává autor stručný přehled současných znalostí o jednotlivých typech kmenových buněk a o možnostech použití kmenových buněk zubní dřeně v terapeutických postupech. Dále se v této kapitole zabývá stručně histologickou stavbou skloviny, dentinu, cementu a zubní dřeně, vývojem zubu, především zubní dřeně. Cíle práce jsou uvedeny na str. 16-20, následuje kapitola Materiál a Metodika, Výsledky a Diskuse. Seznam pracovních postupů je netradičně uveden až na konci disertační práce, nikoli v kapitole Materiál a Metodika, kde bych jej očekávala.

### Aktuálnost práce, volba tématu

Téma disertační práce je zvoleno velmi vhodně a aktuálně. Ukazuje se, že kmenové buňky se mohou uplatňovat i v procesu hojení zubní dřeně a při její regeneraci. Bylo též prokázáno, že v zubní dřeni jak stálých, tak i dočasných zubů existují mesenchymální kmenové buňky s potenciálem k diferenciaci v rozličné buňky. Autor se zaměřil na objasnění některých základních otázek z této oblasti a zejména na standardizaci odběru zubní dřeně tak, aby získaný materiál bylo možno používat v klinických podmínkách.

### Cíle disertace

Autor si ve své práci stanovil následující cíle:

1. Optimalizace izolace kmenových buněk zubní dřeně
2. Standardizace podmínek pro dlouhodobou kultivaci
3. Rozšíření spektra dárců o vyšší věkové kategorie
4. Získání optimální metody získávání zubní dřeně z dřeňové dutiny zubu
5. Porovnání postupů izolace: mechanická versus chemická
6. Vytvoření media s nejnižším možným podílem FCS při zachování viability a dostatečné proliferační aktivity
7. Charakterizace kmenových buněk zubní dřeně stálých i dočasných zubů
8. Ověření schopnosti diferenciaci kmenových buněk zubní dřeně diferencovat se ve vyzrálé buněčné elementy.
9. Průkaz neomezené schopnosti proliferace kmenových buněk zubní dřeně.
10. Zhodnocení účinku ionizujícího záření na proliferační aktivitu KBZP.

## Materiál, metodika

Metody a pracovní postupy použité v disertační práci umožnily splnění všech vytčených cílů. Práce byla prováděna v Laboratoři tkáňových kultur Ústavu histologie a embryologie Lékařské fakulty Univerzity Karlovy v Hradci Králové, která je vybavena špičkovou technikou a dobře zavedenými a osvědčenými metodami. Část výsledků byla získána ve spolupráci s Ústavem biochemie LFUK HK. Použité metody jsou relevantní a počet izolovaných zubních dření byl k dosažení výsledků plně dostačující. Počet zubů dočasných nebyl příliš vysoký, k doplnění informací získaných ze zubů stálých byl však pro tuto disertační práci naprosto dostačující.

## Hodnocení výsledků

Autor ve své disertační práci splnil všechny vytčené cíle. Na práci hodnotím především systematickost v přístupu k řešení jednotlivých etap a jasný popis získaných výsledků i jejich interpretaci. O velké pečlivosti autora svědčí i skutečnost, že se v ní vyskytuje jen zcela nepatrný počet chyb či překlepů. Za významné pokládám vypracování pracovního postupu pro odběr zubní dřene, což není úkol snadný, vzhledem ke skutečnosti, že jednotlivé typy zubů, i když je jejich morfologie stejná, mají individuální a velmi často odlišné uspořádání dřeňové dutiny, zejména v oblasti kořene. Práce prokázala přítomnost mezenchymálních kmenových buněk v zubní dřeni dočasných i stálých zubů a to i u zubů s dokončeným vývojem kořene a jejich schopnost diferencovat se v různé typy vyzrálých buněk. Autor dále prokázal, že lze snížit v kultivačním mediu koncentraci fetálního telecího séra což se může v budoucnu uplatnit v klinických postupech. Práce tak prokázala, že zdrojem kmenových buněk pro reparační pochody eventuelně regeneraci zubní dřene mohou být vitální zuby pacientů. Práce autora patří svým charakterem i náplní do základního výzkumu, uplatnění tohoto výzkumu v praxi bude mimořádně významné zejména v traumatologii zubů u dětí, kdy je poraněný zub často ztracen vzhledem ke ztrátě vitality zubní dřene a následných komplikací. Význam získaných výsledků se odráží i v řadě publikací v časopisech s IF, kde byly dílčí práce publikovány.

K předložené práci mám následující připomínky a dotazy:

1. Autor zvolil název pro zubní dřeň : zubní pulpa. Domnívám se, že používání české terminologie by bylo vhodnější.
2. Autor na straně 5 uvádí, že *Vývoj a erupce zubů jsou pečlivě koordinovány s resorpcí kořenů dočasných zubů. Tento proces začíná v 6 letech dítěte a pomalu ustává po 12. roce věku.* Není tomu tak vždy, dosti často prořezávají zuby, zejména ve frontálním úseku orálně, aniž kořeny dočasných zubů resorbují. Resorpce kořenů dočasných zubů začíná mnohem dříve, již ve 4 letech, v šesti letech již mívají děti prořezány zuby stálé a to střední řezáky v dolní čelisti a v tomto věku je již resorpce dočasných molárů v plném běhu a ve 12 letech jsou již dočasné zuby většinou nahrazeny zuby stálými a prořezává i druhý stálý molár.
3. Počet používaných zkratek, jejichž výčet je na začátku disertace, je dle mého názoru, příliš vysoký. Čtenář, který v příslušném oboru nepracuje, je nucen se k přehledu často vracet. Domnívám se, že by bylo vhodné některé, méně často používané názvy vypisovat. Disertační práce není krátká publikace, kde se zkratkami také šetří místo.
4. Autor prokázal, že mezenchymální kmenové buňky zubní dřene jsou schopny se diferencovat do osteoblastů a chondroblastů. Jsou schopny se diferencovat do fibroblastů, odontoblastů popř. do neuronálních buněk?

5. K regeneraci zubní dřeně jsou zapotřebí kromě vhodných kmenových buněk také růstové faktory a „nosič“. Které z růstových faktorů a které materiály k použití jako nosič (scaffold) pokládá autor za nadějně pro úspěšnou regeneraci zubní dřeně?
6. Jak bude možno ovlivnit angiogenesi?

Uvedené připomínky nesnižují kvalitu předložené disertační práce, kterou pokládám za mimořádně vysokou.

### **Závěr**

Autor zvolil ke své disertační práci vysoce aktuální téma. K jeho řešení použil adekvátní metody a cíle práce bezesbytku splnil. Práce přináší původní poznatky z oblasti základního výzkumu, který orientoval na studium kmenových buněk zubní dřeně. O kvalitě práce svědčí i publikace výsledků v časopisech s IF. Výsledky bude možno využít i v dalším směřování do klinické aplikace výsledků.

Disertační práce MUDr. Jakuba Suchánka: „Kmenové buňky zubní pulpy“ splňuje podmínky §47 Vysokoškolského zákona č.111/98 Sb. Proto práci v předložené formě doporučuji k obhajobě. Dále doporučuji, aby byl po úspěšné obhajobě MUDr. Jakubovi Suchánkovi udělen akademický titul ve zkratce Ph.D.

Brno dne 10.1.2011

Prof. MUDr. M.Kukletová, CSc.