



**Oponentní posudek disertační práce Mgr. Terezy Kubíkové nazvané
„Mikroskopická stavba a mechanické vlastnosti aorty a plicnice“**

Školící pracoviště: Univerzita Karlova, Lékařská Fakulta v Plzni, Ústav histologie a embryologie

Školitel: doc. MUDr. Mgr. Zbyněk Tonar, Ph.D.

Konzultantka: Ing. Petra Kochová, Ph.D.

Mgr. Tereza Kubíková se ve své disertační práci zabývá studiem mikroskopické vnitřní stavby krevních cév, chlopní a cévních náhrad. Za účelem zjištění místní proměnlivosti byla zkoumána vnitřní stavba hrudní vzestupné a sestupné a břišní supra- a infrarenální prasečí aorty. Sledováno bylo zastoupení elastických a kolagenních vláken a zastoupení a orientace buněk hladkého svalstva (včetně rozlišení jejich fenotypu – kontraktilní, syntetický). Histologické zkoumání, rozšířené o měření mechanických vlastností pomocí jednoosých tahových zkoušek, proběhlo u kryogenně skladovaných štepů kořene lidské aorty, plicnice a cípů aortální a plicní chlopně. Ovčí model byl využit k histologickému prozkoumání poškození renálních tepen způsobeného radiofrekvenční ablací místního autonomního nervstva. Posledním problémem, který je v disertační práci zkoumán, je histologické hodnocení vlivu přítomnosti oxidu dusnatého, NO, který byl experimentálně přidán do cévní náhrady z polykaprolaktonu (PCL), na změny ve stavbě umělé cévy způsobené implantací na místo myši aorty.

Výsledky dosažené během výzkumu ukazují, že zatímco v břišní aortě se stavba zdá být nezávislá na pozici (nad/pod- ledvinový úsek), o hrudní aortě totéž říci nelze. Poněkud překvapivě působí zjištění, že elastin je nejhojněji zastoupen v sestupném úseku. Zajímavým zjištěním je fakt, že výsledky kvantitativního zkoumání uspořádání buněk hladké svaloviny ukazují, že tam, kde je ve stěně prasečí aorty hojně zastoupen elastin, jsou svalové buňky rozptýleny co do orientace, ale tam, kde je hojně zastoupen desmin (tedy bílkovina vyznačující kontraktilní fenotyp hladké svaloviny), je hodnota rozptylu orientací svalových buněk nízká. To snad lze v extrému interpretovat i tak, že pokud má hladká svalovina mechanickou funkci, je pravidelně uspořádána. Kde je mechanická funkce ponechána na elastických vláknech, jsou svalové buňky rozptýleny.

Pokud jde o mechanické vlastnosti měřené u kryogenně skladovaných cév a chlopní, výsledky ukazují, že kryoprezervace zachovává jejich mechanickou integritu v takové míře, že tyto štěpy zůstávají použitelné pro další léčebné úkony. Co oponenta poněkud překvapilo, je fakt, že korelace uvedené v Tabulce 11 ukazují zápornou úměru mezi množstvím elastinu a maximální deformací a kladnou úměru mezi obsahem kolagenu a maximální deformací. Upřímně, oponent by to čekal právě naopak – pružný elastin vedoucí k velké deformaci na mezi pevnosti a tuhá kolagen vedoucí k nízké hodnotě tažnosti. Zatímco u denervovaných tepen histologická analýza prokázala slabiny stávajících technik, u PCL cévních náhrad histologické zkoumání ukázalo, že části cévních náhrad ošetřené oxidem dusnatým jsou infiltrovány buňkami nejhojněji.

Oponent hodnotí zvolené téma disertační práce jako aktuální a potřebné. Platí to jak pro vývoj nízkoprůtokové cévní náhrady, která je shodou okolností a zcela nezávisle na školícím pracovišti doktorandky vyvíjena i na oponentově pracovišti, tak pro zkoumání úspěšnosti radiofrekvenční denervace nebo pro histomorfometrickou analýzu prasečí aorty. Ačkoliv na tomto místě by oponent rád

dodal, že právě kvantitativní výsledky uspořádání složek tepenné stěny v aortě mu trochu chyběly. Oponent by uvítal například informace o konkrétních hodnotách parametrů von Misesova rozdělení hustoty pravděpodobnosti. Protože oponentovým oborem je biomechanika srdce a cév, tak i konkrétní hodnoty výsledků mechanických testů by ho zaujaly (disertační práce se soustředí zejména na korelace těchto parametrů s vnitřní stavbou cév).

Pokud jde o zvolené metody a postupy hodnotí je oponent jako soudobé a adekvátní odpovídající dobré vědecké praxi. Zmínil by se snad jen o obrázcích 17B a 20B. Ty znázorňují obecný průběh tahové zkoušky s nelineárním materiálem – např. proužkem vyňatým z tepenné stěny. Ke grafům je třeba podotknout, že jejich část, která zobrazuje počátek zatěžování, je zobrazena poněkud nevhodně jako téměř vodorovná (jde o část křivky v počátku soustavy souřadnic). Zcela vodorovná část křivky by ale znamenala nulovou hodnotu směrnice tečny k této křivce, čili nulovou hodnotu modulu pružnosti, což by bylo v rozporu s faktem, že zkušební vzorek vnímáme jako hmotu v pevné fázi.

Závěrem by oponent chtěl vyzdvihnout úctyhodné množství řezů a snímků, které bylo potřeba v disertační práci zpracovat. To samozřejmě koreluje s faktem, že doktorandka si položila více otázek (histomorfometrie prasečí aorty, kryoprezerované lidské aorty, plicnice a také chlopní, šíření trhliny, poškození radiofrekvenční ablací a vliv oxidu dusnatého na úspěšnou arterializaci cévní náhrady). O tom, že jsou její otázky vědecky relevantní a jejich zodpovězení že znamená vědecký pokrok, svědčí i publikační aktivita týkající se předložené disertační práce. Výsledky, jak je doloženo v práci, byly publikovány minimálně ve třech prestižních zahraničních odborných časopisech s impakt faktorem.

Oponent konstatuje, že předložená disertační práce splnila stanovené cíle a vykazuje znaky kvalitní vědecké práce a doporučuje konání obhajoby a po jejím úspěšném provedení udělení titulu doktor vyznačovaného zkratkou Ph.D. užívanou za jménem tak, jak stanoví Zákon č. 111/1998 Sb.

V Praze 18. 7. 2017

doc. Ing. Lukáš Horný, Ph.D.
ČVUT v Praze, Fakulta strojní

Otázky k obhajobě:

- (1) Oponent se již zmínil o výsledcích histomorfometrických analýz. Mohla byste, prosím, vyčíslit hodnoty parametrů von Misesova rozdělení zjištěné pro prasečí aortu? Popřípadě dokumentujte tyto distribuce graficky.
- (2) Práce se příliš nezmiňuje o způsobu přípravy vyvíjené cévní náhrady z PCL. Mohla byste ji alespoň ve stručnosti popsat a zmínit se, jakým způsobem do ní byl uložen oxid dusnatý?
- (3) Práce se velmi soustředí na popis stavu struktury, ale klade si málo základních otázek začínajících slůvkem *proč*? Mohla byste navrhnout nějaké vysvětlení, proč je nejvyšší obsah elastinu v prasečí aortě v její hrudní sestupné části?
- (4) Oponent se dlouhodobě zabývá otázkami podélného předpětí krevních cév, a tak by ho zajímalo, zda při vynětí aort, renálních tepen a cévních náhrad byla měřena hodnota podélného předpětí. Pokud ano, jakých dosahovalo předpětí hodnot?