

OPONENTSKÝ POSUDEK DOKTORSKÉ DISERTAČNÍ PRÁCE

Mgr. Petera Trošana

„The culture of limbal and mesenchymal cells on various feeders for their use in ophthalmology“

1. lékařská fakulta UK

Deficience limbálních kmenových buněk představuje nesmírně závažné zrak ohrožující onemocnění. Jedná se o velmi obtížně řešitelný stav. Výzkum kultivace limbálních a mezenchymálních buněk je v současné době velice aktuální a bezpochyby přispívá k lepšímu pochopení chování buněčných populací, což jistě pomůže zlepšit jejich využití v léčbě pacientů. Předkládaná doktorská disertační práce Mgr. Trošana jednoznačně posouvá problematiku kultivace limbálních kmenových buněk k možnému využití v klinické praxi.

V první části dizertační práce se autor věnoval využití mezenchymálních kmenových buněk a jejich diferenciaci na rohovkové buňky, které je možné terapeuticky využít zejména při bilaterálním poškození rohovky. Kultivace limbálních kmenových buněk bez použití xenogenních médií má velké potencionální využití v klinické praxi. V dalších experimentech byla využita limbální tkáň pro generaci spojivkové tkáně, přitom byla popsána velmi důležitá role IL-13 při udržení kmenovosti v kultuře buněk. Ve druhé části se autor podílel na přípravě protokolu pro dekontaminaci amniové membrány. Takto připravená tkáň se úspěšně využívá v léčbě dlouhodobě se nehojících ran. Dále se zde autor zabýval možností de-epitelizace amniové membrány. Prokázal, že je možné připravit de-epitelizovanou amniovou membránu a současně využít epitelové buňky ke kultivaci. Epitelové buňky amniové membrány vykazují vlastnosti kmenových buněk.

Disertační práce je zpracována klasickou formou. Bez původních článků má šedesát šest stran a všechny doporučené náležitosti. Obsahuje předmluvu, úvod, hypotézy a cíle, materiál a metody, výsledky, diskuzi, souhrn a reference. V práci je 20 obrázků a 237 citací. Je nutno ocenit, že grafické zpracování disertace je velmi dobré kvality. Základní pojmy, hypotézy a cíle práce jsou srozumitelné a konkrétně formulovány. Považuji téma a cíle za aktuální a klinicky významné, stejně tak zvolené metodické postupy.

Výsledky disertace se dají shrnout takto:

1. Byl stanoven protokol pro kultivaci limbálních epitelálních buněk bez použití xenogenních médií.
2. Byl navrhnout protokol pro kultivaci spojivkových epitelových a pohárkových buněk z okraje korneosklerálního terče.
3. Pomocí použití IGF-1 s rohovkovým extraktem bylo dosaženo zvýšení efektivity diferenciací myších mesenchymálních kmenových buněk do buněk podobných rohovkovým buňkám.
4. Byl připraven a testován laboratorní dekontaminační roztok pro dekontaminaci amniové membrány.
5. Byl stanoven protokol pro získání nepoškozené de-epitelizované amniové membrány a současně životaschopných buněk epitelu.

Mám na autora tři otázky:

1. Můžete vysvětlit, jak je možné kultivovat buňky spojivky z limbální tkáně, která primárně slouží pro obnovování rohovkového epitelu?
2. Je možné využít IL-13 také k udržení kmenovosti limbálních kmenových buněk při kultivaci pro léčbu LSCD?
3. Jaký je rozdíl v kultivaci limbálních kmenových buněk mezi vaším modelem bez využití xenogenních médií a kultivaci buněk s patentovaným systémem Holoclar?

Závěr: Předložená doktorská disertační práce je kvalitní a považuji předložené výsledky za vědecky významné. Autor projevil schopnost samostatné tvůrčí vědecké činnosti. Doporučuji práci k obhajobě a na jejím základě udělení titulu PhD.

V Praze dne 31. 5. 2019

MUDr. Magdaléna Netuková, PhD

Oftalmologická klinika a oční tkáňová banka

FNKV a 3. LFUK

Šrobárova 50

100 34, Praha 10