

OPONENTSKÝ POSUDEK

Disertační práce předložená k obhajobě k získání vědecké hodnosti PhD. má název „Vliv kyseliny hyaluronové na kmenové buňky zubní dřene“ a v celkovém objemu 104 stran je obsažen text, 23 obrázků, 12 grafů, 7 tabulek a 207 literárních odkazů. Disertační práce řeší jeden z aspektů vysoce aktuální problematiky, kterou je regenerace biologických tkání při použití kmenových buněk. Není s podivem, že dramatický průnik kmenových buněk zubní dřene do regenerativních procesů, mimo jiné i např. nervové tkáně, zůstává skryt před zraky laické i odborné veřejnosti, protože hlavním představitelem zubního lékařství jsou hlavně bílé zuby. Možnost řešení a koncepce výzkumného záměru byla pochopitelně podložena dostupností potřebných a vhodných laboratorních metodik současně s poznatky a zkušenostmi, které řešitel získal pobytem na zahraničním pracovišti.

Z autorova rozboru současného stavu vědění o chování kmenových buněk získaných v oblasti dentálního a parodontálního biotopu a paralelně o možnostech využití kyseliny hyaluronové jako nosiče pro tvorbu regenerátu vyplynuly otázky, které se ukázaly jako významné a dosud neřešené ve složitém komplexu regenerativních pochodů. Tyto otázky tedy vedly k formulování cílů výzkumné práce spočívajících v hodnocení vlivu kyseliny hyaluronové na kmenové buňky získané ze zubní dřene stálých zubů s důrazem na nízkomolekulární kyselinu hyaluronovou. Pro monitorování interakce mezi kmenovými buňkami a kyselinou hyaluronovou, či jejími nízkomolekulárními variantami byla použita vhodná analýza založená na hodnocení viability, velikosti proliferační aktivity, fenotypu, diferenciačního potenciálu a telomerázové aktivity kmenových buněk. Jedná se o parametry, které rozhodují o kvantitativních i kvalitativních aspektech regenerativních aktivit. Značné badatelské úsilí bylo orientováno na hledání nízkomolekulárních fragmentů, které by co nejrealističtěji odpovídaly výsledkům biodegradčních pochodů probíhajících při odbourávání nosiče kmenových buněk (v našem případě kyseliny hyaluronové) a vytváření prostoru pro tvořící se regenerát.

Výsledky studie v první části ukázaly, že kyselina hyaluronová o různé molekulární hmotnosti je vhodným nosičem pro aplikaci adultních kmenových buněk zubní dřene a v jako tělu vlastní substanci v ní buňky normálně přežívají, adherují k povrchu kultivační misky, prolifерují a udržují si schopnost diferenciace ve zralé buněčné elementy. V rámci přípravy experimentů s nízkomolekulárními fragmenty kyseliny hyaluronové byla vytvořena unikátní metoda reflektující přirozené enzymatické štěpení kyseliny hyaluronové, ke kterému dochází během dezintegrace nosiče pro regenerát. Dalším přínosem předložené studie je poznatek, že při testování reakce kmenových buněk zubní dřene na kyselinu hyaluronovou a její štěpné produkty je třeba opakovanými pasážemi buněk zohlednit dynamiku procesu, kdy se sledované parametry v čase mění. Vzdor tomu, že kyselina hyaluronová je normální komponentou řady tkání, předložená studie prokázala, že její role v tvorbě nosiče v regenerativních postupech není tak zdánlivě jednoduchá a s ohledem na skutečnost, že její degradační produkty negativně ovlivňují proliferační aktivitu, velikost, telomerázovou aktivitu a expresi fenotypových znaků kmenových buněk zubní dřene, je třeba hledat mechanismy, které budou schopny tyto negativní vlivy potlačit.)

Ve světle získaných a dokumentovaných závěrů výzkumu lze odpovědně konstatovat, že vytýčené cíle byly beze zbytku splněny a přinesly některé originální výsledky, které budou jistě stimulem pro pokračování slibně započatého výzkumného zaměření.

Uchazeč prokázal schopnost analyzovat danou problematiku a zvládnutí specifických experimentálních postupů, které umožnily posunout stav poznání v dané problematice směrem ke klinické aplikaci. Ocenění zaslouží i formální stránka disertační práce, kde autor osvědčil schopnost pregnantně formulovat své úvahy v dané problematice a též závěry a diskusi s existujícím stavem poznání dané problematiky.

Na základě výše uvedeného hodnocení doporučuji předloženou práci k obhajobě.

V Plzni, 23.8.2021

doc.MUDr. Pavel Poleník,CSc.

Stomatologická klinika LFUK a FN Plzeň