

Ing. Alexander KROMKA, PhD  
Fyzikální ústav AV ČR, v.v.i.  
Cukrovarnická 10, 162 53 Praha  
Tel: 220 318 437  
Fax: 233 343 184

p. Ivana Tinková  
UK 2.LF-děkanát, odd. vědy  
V Úvalu 84, 150 06 Praha 5  
tel.: 224 435 836  
fax.: 224 435 820

## Věc: Oponentský posudek k doktorské disertační práci Mgr. Eleny Filové

### **Název dizertační práce:**

Cévní a kostní buňky na polymerních strukturách pro tkáňové inženýrství

Předložená doktorská disertační práce se dá klasifikovat jako interdisciplinární práce tří vědních oborů: biologie (růst a diferenciací buněčných kultur), chemie (vývoj syntetických podložek a jejich povrchová modifikace) a fyziky (charakterizace materiálových vlastností). Ze statistického hlediska se disertační práce skládá ze sedmi hlavních kapitol (započteno je i shrnutí výsledků). Doktorskou disertační práci je možné rozdělit na úvod (rešeršní část shrnutí aktuálnosti tématu) a experimentální část v zkrácené formě založené na shrnutí výsledků publikovaných v pěti impaktovaných vědeckých časopisech, a v jednom příspěvku v tisku. Na základě uvedené formy doktorandské práce je počet obrázků omezen jenom na experimentální část v celkovém počtu 6 obrázků.

Z odborného hlediska se doktorská práce v úvodu věnuje rešeršní přehledu vlivů a faktorů na růst buněčných kultur na „přírodních“ nebo „syntetických“ polymerních substrátech (kapitola 1). Tematicky je vědecký záběr kapitoly 1 velmi rozsáhlý a odborně patřičně náročný v důsledku multidisciplinárního charakteru uvedené problematiky, kde se střídá základní biochemie na molekulární úrovni se shrnutím *dynamiky* procesu růstu různých buněčných kultur, vyjmenováním požadavků na realizaci cévních a kostních implantátů, s diskusí vlivu jejich chemického a morfologického složení na kultivaci buněk, a podobně. Z technického hlediska by bylo asi vhodnější zakomponovat i ilustrační nebo schematické obrázky v rešeršním přehledu (tj.

úvodu) a zvolit vhodný kompromis v patřičném zkrácení textu. V celkovém hodnocení, rešeršní přehled se dá klasifikovat pozitivně s citováním vědecky aktuálních prací.

Kapitola 2 se věnuje klasifikování jednotlivých cílů práce, které jsou rozděleny do pěti tematických celků. Společným a spojujícím charakterem cílu práce je použití přírodně příbuzných „polymerních“ skupin pro studium růstu vybraných buněčných kultur různými metodami a technikami. Biologická část, tj. řada buněčných experimentů, obsahově dominuje s orientací na studium růstu cévních, endotelových a hladkých svalových buněk na podložkách z fibrinových vláken uspořádaných plošně nebo ve formě trojrozměrně modifikovaných struktur (radši bych napsala: ve formě trojrozměrných sítí) (cíl 1), studiu vlivu modifikace těchto vláken vybranými ECM proteiny (cíl 2), a studiu vhodnosti použití syntetických substrátů funkcionalizovaných ligandovými skupinami pro kultivaci cévních buněk (cíl 3). Dalším cílem práce je studium vlivu pórovitosti 3D skeletu (cíl 4) a vlivu jeho geometrie povrchu (tj. jeho tvarování) na růst kostních buněk (cíl 5).

V kapitole 3 je shrnutí použitých metod, technik a postupů ke studiu vlivu charakteru a vlastností „podložky“ na růst buněčných struktur. Z odborného hlediska se uvedená kapitola dá rozdělit na dva celky: a) příprava substrátů a modifikace jejich povrchů a b) studium a charakterizace jednotlivých „faktorů“ na růst buněčných kultur (tato část je rozepsána podrobněji). K jednotlivým metodám/technikám jsou uvedeny i příslušné citace, kde se čtenář může seznámit s jejich detailnějším popisem. Z hlediska hodnocení byly vyjmenované metody, techniky a postupy zvoleny správně a jsou popsány dostatečně kvalitně a přesně, a k jejich popsání byl zvolen vhodný rozsah.

Hlavní experimentální část je popsána v kapitole 4 a je předložena v zkrácené formě, v rámci které jsou shrnuty výsledky prací publikovaných ve vědeckých časopisech. Následná diskuse dosažení experimentálních výsledků je rozepsána v kapitole 5. Kapitola 4 se svou náplní i pořadím striktně drží cílů doktorandské práce definovaných v kapitole 2. Vysoká vědecká odbornost jednotlivých článků (tj. i hlavní experimentální část PhD disertace a včetně diskuse) je nepřímou stvrzena i procedurou požadovanou publikovat v daných mezinárodně uznávaných časopisech, a tudíž už prošla oponentním řízením vydavatelů. Seznam publikovaných článků obsahuje 2 práce s impakt faktorem **IF=2,612**, a celkový **průměrný IF dosahuje hodnoty 1,851**. Navíc je Mgr. Filová první autorkou u dvou publikací a v jedné publikaci je rovnocenná s prvním

autorem, jak je zvykem u mezioborových prací. V rámci experimentální práce byly získány nové výsledky, které vedly k udělení **Českého patentu**.

Mgr. Filová se zúčastnila řady vědeckých konferencí (26), na kterých měla **13 ústních přednášek** (tj. dosáhla až 50% úspěšnosti ve výběru svých prezentací pro přednášky), což dostatečně prezentuje vědeckou a odbornou aktuálnost předkládané doktorandské práce. Na základě uvedených faktů a statistik nejsou k vědeckému obsahu práce žádné výhrady.

Z technického hlediska experimentální část (kapitola 4) částečně vyznívá příliš stručně. Kapitole 4 se z technického hlediska dá vytknout chybějící přesný (zřetelný) popis obrázků, tj. doby kultivace buněčných kultur, a v jednom obrázku dokonce chybějící měřítko. Jednotlivé nedostatky jsou zakomponovány jako součást seznamu otázek a připomínek.

Kapitola 6 (Conclusions) se věnuje shrnutí výsledků, opět strukturně uspořádaných dle pořadí cílů definovaných v kapitole 2, a následně uvedených experimentálních studií v kapitole 4. Tento fakt vhodně zprůhledňuje plynulost a vzájemnou následnost dílčích úloh v komplexním záměru studia vhodnosti „přírodních“ nebo „syntetických“ polymerů různě povrchově a morfologicky modifikovaných ke kultivaci buněk. Závěrečná kapitola 7 shrnuje dosažené výsledky a uzavírá, že všechny sledované polymerní typy (a jejich modifikace) jsou vhodné pro biomedicínské využití. Uvedená doktorandská práce je ukončena rozsáhlým seznamem použité literatury – citováno 223 prací (kapitola 8), dále seznamem publikační činnosti, konferenčních příspěvků a jiných odborných a vědeckých aktivit Mgr. Filové (kapitola 9-11).

#### Seznamu otázek a připomínek:

1. Fibrinové agregace – můžete odhadnout časovou a ekonomickou náročnost jejich získávání (tj. výroby) a srovnat je se současnými materiály?
2. Obrázek 2 stran 50, obrázek 1 strana 51/52 – chybí doba kultivace, obrázek 1 strana 53/54 – chybí doba kultivace a měřítko. Prosím o ujasnění/upřesnění.
3. Můžete komentovat stabilitu použitých ECM proteinů? Co se s nimi hlavně děje? Byla nějakým způsobem porovnána jejich přítomnost (koncentrace) na začátku a na konci kultivačního experimentu?
4. Jak je časově a technicky náročné navázání oligopeptidu? Můžete porovnat daný proces s jinými, časově kratšími? Jak byly molekuly navázány k povrchu? (Chemickou nebo fyzickou sorpcí, atd.)

5. Můžete komentovat stabilitu mikro-vzorků získaných lokální polymerizací v plazmě. Jaká je časová/teplotní/experimentální (tj. proces kultivace buněk) stabilita uvedených povrchu?
6. Můžete blíže komentovat praktické použití výsledků do budoucna pro základní nebo aplikovaný výzkum? V čem by bylo zajímavé pokračovat a s jakými výhledy?

V celkovém hodnocení se uvedená disertační práce dá klasifikovat vysoce pozitivně. Disertační práce Mgr. Eleny Filové je bezesporu fundovanou interdisciplinární studií, jež přináší cenné poznatky ve vývoji nových substrátů a jejich modifikací s potenciálním použitím v regenerativní medicíně. Proto doporučuji tuto práci k obhajobě s tím, že Mgr. Elena Filová prokázala schopnost samostatné tvořivé vědecké práce a po zodpovězení uvedených otázek a připomínek se doporučuje udělit Mgr. Filové titul PhD.

V Praze, 12. ledna 2009.

---

Ing. Alexander KROMKA, PhD.