

Oponentský posudek dizertační práce Mgr. Andrey Gálisové „Alternativní metody zobrazení pankreatických ostrůvků“

Práce Mgr. Gálisové je zaměřena na aplikaci nových metod vizualizace transplantovaných Langerhansových ostrůvků. Jedná se o základní výzkum na experimentálních zvířecích modelech s použitím vysoce sofistikovaných moderních zobrazovacích metod. Páteř práce tvoří tři studie, jejichž závěry byly publikovány v sedmi článcích v zahraničních recenzovaných časopisech s impakt faktorem. U čtyř článků je studentka první autorkou, v ostatních případech spoluautorkou.

Formální uspořádání práce

Práce splňuje všechny formální náležitosti. V úvodní části jsou jasně formulovány cíle dané práce, přesněji by ovšem měly být definovány i hypotézy. Následuje rozsáhlý teoretický úvod do celé problematiky léčby diabetu 1. typu transplantací Langerhansových ostrůvků, popis možností zobrazování ostrůvků v klinice i experimentu, současné možnosti magnetické rezonance i alternativních metod se všemi výhodami a limitacemi. Teoretická část je velmi obsáhlá a prokazuje autorčinu výbornou orientaci v celé problematice. V experimentální části jsou postupně uvedeny všechny tři studie s velmi podrobným popisem metodiky, výsledků a diskuse. Studie jsou kvalitně navrženy a komplexně zkoumají položené otázky. Ke zlepšení přehlednosti by bylo vhodné na začátku každé studie ještě před podrobným popisem metodiky uvést v několika větách základní schéma pokusu. Klíčové poznatky celé práce jsou shrnuty v závěru, následuje souhrn vlastních publikací autorky a použitá literatura. Seznam použité literatury je rozsáhlý, aktuální a opět potvrzuje autorčinu dobrou orientaci v tématu. V příloze jsou prezentovány plné texty výše uvedených šesti článků, poslední zatím ještě nevyšel tiskem. Práce je psaná kvalitní angličtinou a je na vysoké grafické úrovni včetně doprovodných grafů a barevných ilustrací. Celkový rozsah práce bez příloh je 127 stran.

Hlavní závěry:

1. Při značení Langerhansových ostrůvků novými kontrastními látkami typu CEST s atomy europia a ytterbia bylo efektivnější použití mikroporace než prosté endocytózy. K vizualizaci je ovšem nutné použití vysoké koncentrace kontrastních látek, což narušuje viabilitu a funkci ostrůvků. Problémem při MR zobrazení je i nutnost dlouhého akvizičního času. Použití těchto kontrastních látek není v současnosti vhodné pro klinické použití.
2. Na zvířecím modelu byla otestována možnost transplantace geneticky modifikovaných Langerhansových ostrůvků do alternativního místa (podkožní polymerické skelety) a ověřena možnost monitorace jejich množství a viability za pomoci bioluminiscence. Lepších výsledků bylo dosaženo při transplantaci ostrůvků 4. den v porovnání se 7. dnem. Při vyšetření DCE MRI bylo zjištěno, že přidání mesenchymálních kmenových buněk zlepšilo vaskularizaci skeletů, ale zhoršilo funkci ostrůvků.
3. Byla zavedena nová metodika trimodálního zobrazování (bioluminiscence, fluorescence a 19F MRI) transplantovaných ostrůvků. Endocytóza je efektivnější při značení ostrůvků multimodálními nanočásticemi než mikroporace. Při hodnocení viability ostrůvků dobře koreloval bioluminiscenční a 19F MRI signál, naproti tomu fluorescenční signál byl detekovatelný jen 4 dny po transplantaci a fluorescenční částice pravděpodobně není in vivo stabilní.

Publikace

Práce byly publikovány v letech 2014-17 v časopisech Journal of Molecular Imaging and Dynamics (IF 2), Transplantation Proceedings (IF 0.9), Molecular Imaging and Biology (IF 3.5), Dalton Transactions (IF 4), Contrast Media and Molecular Imaging (IF 3.3) a Biological Procedures Online (IF 2). Počet a kvalita publikací přesahuje požadavky na doktorandské studium.

Otázky:

1. Mohou se vylučovat CEST částice z vitálních ostrůvků? Jaký je v těle osud CEST látek po zániku ostrůvků? Jakým mechanismem poškozovaly ostrůvky? Jaká by byla jejich toxicita v humánní medicíně?
2. Je známo, zda po genetické manipulaci produkují luciferázu všechny buňky Langerhansových ostrůvků? Můžeme na základě pozitivní bioluminiscence specificky hodnotit viabilitu beta buněk? Jsou geneticky modifikované ostrůvky používány ve studiích stejné struktury, chemických a fyzikálních vlastností jako nativní ostrůvky?
3. Jak si vysvětlujete pokles funkce transplantovaných ostrůvků při přidání mesenchymálních kmenových buněk do skeletů? Zlepšené prokrvení by naopak mělo zvyšovat viabilitu ostrůvků.
4. Podkožně implementované ostrůvky nemají portální ale systémovou drenáž. Zaznamenali jste nějaký rozdíl v účinku inzulínu mezi intrahepatálně a podkožně transplantovanými ostrůvky?
5. Jsou nějaké zkušenosti s monitorací ostrůvků s pomocí ¹⁹F MRI při intrahepatálním podávání?
6. Kterou metodiku vidíte jako nejperspektivnější pro zavedení do klinické praxe?

Závěr:

Prezentovaná práce řeší problematiku kvalitního zobrazení transplantovaných Langerhansových ostrůvků a posouzení jejich viability in vivo. Tato metoda léčby diabetu 1. typu je již v současnosti klinicky používána, nicméně nedosahuje zatím optimálních výsledků. Posun ve vývoji alternativních aplikačních míst (podkožní skelety) a inovativních zobrazovacích metod přináší velký příslib i pro humánní medicínu a zpracované téma je tak vysoce aktuální. Práce svým rozsahem a kvalitou výšetrovacích metod představuje vysoce specifický výzkum s mezioborovým přesahem. Prezentované výsledky jsou inovativní a již obstály v mezinárodní konkurenci, což dokazují publikace v kvalitních zahraničních časopisech i ocenění, kterých se již autorce dostalo při prezentaci výsledků na mezinárodních konferencích.

Autorka prokázala, že je schopna kvalitní samostatné vědecké práce v plném rozsahu a je schopna kvalitně interpretovat a prezentovat svoje výsledky a proto doporučuji dizertační práci k obhajobě a doporučuji udělení titulu Ph.D. za jménem.

V Praze 21.5.2018

MUDr. Simona Kratochvílová, Ph.D.

Centrum diabetologie, IKEM

