



Prof. MUDr. RNDr. Jiří Beneš, CSc  
Předseda OR Lékařská Biofyzika  
1. LF UK  
Univerzita Karlova  
Kateřinská 32  
12108 Praha 2

Evt. OE-Kürzel

Medical University of Vienna  
**Department of Internal Medicine III**  
**Division of Endocrinology and**  
**Metabolism**

Währinger Gürtel 18-20,  
1090 Vienna, Austria  
T: +43 (0)1 40400 37710  
martin.krssak@meduniwien.ac.at  
www.meduniwien.ac.at

Assoc.Prof. Martin Krššák, Ph.D.

Vienna, 03-Jun-2018

### **Oponentský posudok / Dizertačná práca Mgr. Andrea Gálisová**

#### **"Alternative methods for visualisation of pancreatic islets."**

Predložená dizertačná práca obsahuje výsledky experimentov, ktoré mali za cieľ špecificky označiť a zobrazit' implantované pankreatické ostrovčeky v pokusoch zahŕňajúcich ex vivo kultúry explantovaných ostrovčekov a modely transplantácie na experimentálnych zvieratách. Na označenie ostrovčekov a mezenchymálnych kmeňových buniek boli použité značky detegovateľné rôznymi zobrazovacími neinvazívnymi metódami – chemical exchange saturation transfer (CEST) senzitivne kontrastné látky pre frekvenčne selektívne  $^1\text{H}$  MR zobrazovanie, bioluminiscenčne aktívne genetické manipulácie a nanočastice s integrovaným  $^{19}\text{F}$ -kontrastným činidlom na  $^{19}\text{F}$  MRI a fosforescenčným označením. Jednotlivé pokusy mali nielen označiť získané ostrovčeky, ale hlavne posúdiť detekčnú citlivosť a vhodnosť kombinácie značka/zobrazovacia metóda v ex vivo resp. in vivo experimente a taktiež posúdiť životaschopnosť a funkciu izolovaných ostrovčekov a tým aj zhodnotiť danú metódu na prípadné budúce použitie v klinickom výskume, resp. v klinickej praxi. V jednom prípade (Experiment 2) bola klasická  $^1\text{H}$  MRI Gd-obsahujúca kontrastná látka použitá na zobrazenie a posúdenie prekrvenia miesta pripraveného na experimentálnu implantáciu v podkožnej komôrke experimentálneho zvierat'a vystuženom polymerickou mriežkou (scaffold). Výsledky tohto pokusu boli použité na optimalizáciu časovania a priebehu implantačnej procedúry. Funkčnosť implantovaných ostrovčekov bola monitorovaná meraním glycémie experimentálnych zvierat. Z predstavených metód a výsledkov experimentov sa ako najcitlivejšia a najselektívnejšia vzhľadom na posúdenie životaschopnosti a funkčnosti ostrovčekov javí metóda používajúca  $^{19}\text{F}$  MRI kontrastnú látku integrovanú v nanočasticiach (Experiment 3). Kombináciu tohto poznatku s výsledkami Experimentu 2 o správnom časovaní kombinácie implantácie ostrovčekov a prekrvenie-stimulujúcich mezenchymálnych kmeňových buniek možno označiť za hlavný prínos posudzovanej práce pre túto oblasť výskumu. Oceňujem tiež „odvahu“ objektívne a kriticky referovať „negatívne“ výsledky označenia a zobrazenia ostrovčekov pomocou CEST-senzitívnych kontrastných látok v Experimente 1.

Množstvo aktuálnej literatúry k pojednávanej téme je dôkazom toho, že predloženú prácu možno oznacit' ako vysoko aktuálnu, riešiacu problémy vyskytujúce sa v



predklinickom ako aj v klinickom výskume transplantácie pankreatických ostrovčekov. Zameranie na moderné neinvazívne a neradiačné zobrazovacie metódy ponúka možnosť neskoršieho využitia v klinických štúdiách. Aktuálnosť zvolenej témy a zvládnutie problematiky je doložené aj počtom kandidátnych originálnych publikácií v renomovanej medzinárodnej vedeckej tlači v oblasti "Molekulárneho zobrazovania". Aj počet a rozsah prác kde Mgr. Gálisová konštruktívne uplatnila svoje vedomosti a zvládnuté prístupy vo vedeckej spolupráci a publikačnej činnosti s inými vedeckými pracoviskami svedčí o aktuálnosti a širokom záujme o použité postupy.

Takisto možno túto prácu označiť ako veľmi komplexnú, zahŕňajúcu nielen rozličné metódy samotného zobrazovania, ktorých zvládnutie by samo o sebe možno stačilo zaplniť prácu s týmto zámerom, ale aj zahŕňajúcu podrobný popis a hodnotenie postupov použitých na izoláciu a vhodné značenie izolovaných pankreatických ostrovčekov.

Formálne je práca clenená na prehľadný úvod do problematiky transplantácie pankreatických ostrovčekov, procesov ich značenia a vizualizácie ako aj vhodný popis zobrazovacích metód. (Introduction, Aims, Theoretical part). V experimentálnej časti je práca viac-menej chronologický súbor jednotlivých experimentov a ich výsledkov tak ako boli kandidátkou neskôr publikované v odbornej literatúre. Jednotlivé časti na seba dobre naväzujú. Popis použitých metód a výsledkov je detailný a je doplnený dostatkom prehľadných experimentálnych schém a grafickým zobrazením nameraných dát. V diskusii k jednotlivým častiam sú výsledky detailne a správne zhodnotené.

Na tomto mieste by sa snáď dalo vytknúť jedine len relatívne stručné zhrnutie a krátka súhrnná diskusia výsledkov práce v časti "Conclusion". Rád by som si v rámci obhajoby práce vypočul viac detailov o možných obmedzeniach použitých zobrazovacích postupov resp. porovnanie ich možností v budúcich predklinických experimentoch na zvieratách ako aj v humánnych štúdiách alebo klinickej praxi. Tak isto by som bol rád požiadal kandidátku o zváženie súčasného vývoja a možností merania trojrozmerným optickým zobrazovaním, MR meraní pri vyšších hodnotách indukcie magnetického poľa s použitím citlivejších viackanalových a/alebo cryostaticky chladených MR cievok ako aj prípadné interné biochemické a fyziologické mechanizmy vedúce k CEST efektu.

Záverom rád konštatujem, že predloženou prácou Mgr. Andrea Gálisová preukázala schopnosť samostatnej tvorivej vedeckej práce v odbore lekárska biofyzika a spĺňa predpoklady na udelenie vedeckého titulu – doktor filozofie – Ph.D.



Martin Krššák, Ph.D.

Associate Professor of Medical Physics