

## OPONENTSKÝ POSUDEK DISERTAČNÍ PRÁCE

### Studium bariérových lipidů v kůži a kožních modelech

**Autor: Mgr. Michaela Sochorová**

---

Základem předložené disertační práce tvoří soubor 6 významných publikací s komentáři, které jsou rozděleny do 3 podkapitol dle využitých modelových systémů v experimentech. Řešena byla příprava a studium kožních modelových membrán řešících otázky fyziologie a patofyziologie kožní bariéry.

Kožní bariérová funkce chrání lidský organismus před nežádoucími vlivy zevního prostředí, brání ztrátám vody, podílí se na regulaci homeostázy. Autorka zabývající se studiem bariérových lipidů v humánní kůži a kožních modelech předkládá soubor komentovaných prací publikovaných v zahraniční odborné literatuře. Předkládaná práce má 66 stran a je rozdělena do 6 základních sekcí.

V úvodní fázi autorka podává úvod do problematiky a stanovuje cíle práce. V dalších 2 sekcích se zabývá jednak funkcí a stavbou kůže a dále kožní bariérovou funkcí včetně rozboru klinických jednotek, u kterých se uplatňují poruchy kožní bariérové funkce. Čtvrtá část se věnuje metodice studia kožní bariéry a pátá část pak podává souhrnné komentáře k výše uvedeným publikovaným pracím v zahraniční odborné literatuře. Publikované práce byly podrobně recenzovány, prezentace výsledků v tabulkách, grafech a schématech je příkladná a plně odpovídá vysokému mezinárodnímu standardu. Přehled použité odborné literatury je prezentován odpovídajícím způsobem a citován v každé přiložené publikaci. Je recentní a uvádí nejvýznamnější zahraniční publikace, které se bezprostředně vztahují k řešenému tématu. Konečně finální šestá část podává závěry studia autorky a spol.

V úvodu práce je uveden abstrakt, seznam užitých zkratk, v závěru pak i velmi bohatá referenční literatura a faktická data z životopisu pacientky.

Téma práce je vysoce aktuální, autorka přibližuje problematiku přípravy a využití kožních modelů ve studiu fyziologických i patologických parametrů kůže. Práce je zaměřena především na studium *stratum corneum*, které hraje významnou roli v udržení bariérové funkce. Autorka se zabývala přípravou a studiem lipidové membrány s insuficientní aktivitou specifických enzymů a objasněním přípravy modelových membrán vhodných ke studiu bariérových vlastností.

Rekonstruované kožní modely s obsahem kožních buněk a tvořících epidermis členěnou do klasicky uspořádaných vrstev byly využity při studiu kožních modelů se sníženou expresí filaggrinu jako významného faktoru bariérové funkce kůže s přítomností aktivovaných T lymfocytů. Tyto práce jsou velmi významné zejména u některých klinických jednotek, které vykazují z klinického hlediska rostoucí incidenci a prevalenci (atopická dermatitida).

Rekonstruované kožní modely byly dále využity v hodnocení nádorových kožních lézí v různých fázích onemocnění. Modely *ex vivo* se svými charakteristikami blížily nejvíce reálnému stavu. I zde je spatřován významný přínos studia ve výzkumu terapeutických přístupů.

### **Klinický přínos**

Zjištění příznivého efektu agonistů PPAR na expresi filaggrinu a normalizaci mastných kyselin v kůži může být významným faktorem v udržení bariérové funkce kůže a podpory její hydratace pro ovlivnění permeability. Unikátní zjištění vlivu thymového stromálního lymfopoetinu na migraci imunitních buněk, zapojených do imunitní odpovědi vedoucí k zánětlivému postižení kůže, může nalézt využití v cíleném terapeutickém ovlivnění řady zánětlivých dermatóz. Zjištěné defekty kožní bariérové funkce úměrné rozsahu neoplastických buněčných přeměn mohou též zásadním způsobem přispět k pochopení patogenetických jevů a dalšímu výzkumu cílených terapií.

Konečně srovnávací studium neinvazivních metod odběru kožních vzorků od dermatologických pacientů se zjištěním superioritu metody „tvorby puchýře pod tlakem“ v zajištění vzorků intaktní epidermis pro studium proteinů, RNA i analýze lipidů znamená klinický přínos pro výzkum kožních onemocnění.

### **Formální nedostatky**

V předložené práci nebyly zjištěny formální nedostatky.

### **Dotazy pro uchazeče**

1. Předpokládáte přímou souvislost mezi kancerogenní přeměnou kožních buněk a defekty bariérové funkce kůže?
2. Defekty filaggrinu a ceramidů jsou považovány za klíčových faktorů narušení kožní bariérové funkce vedoucí k rozvoji atopické odpovědi organismu za účasti imunitního systému. Příznivý efekt agonistů PPAR na expresi filaggrinu byl významným způsobem pozitivně ovlivnil vývoj atopické dermatitidy. Za zcela zásadní v terapeutickém ovlivnění této klinické jednotky je považováno každodenní, frekventní užití změkčujících a hydratačních prostředků. Na trhu existují i preparáty s obsahem ceramidů. Je známo, do jaké míry mohou

inkorporované molekuly ceramidů příznivě ovlivnit kožní bariérovou funkci, v jaké intenzitě a zejména doby pozitivního přetrvávání účinku v zajištění homeostatických poměrů epidermálních struktury?

3. Dle řady autorů hraje významnou roli i protein claudin-1 (kódován CLDN1 genem, součást tzv. „tight junction“struktur; mj. i funkce v prevenci ztráty vody paracelulárním prostorem, defekty CLDN1 genu významnější pro atopickou dermatitidu než FLG u africké populace). Byly v kožních modelech, dle Vašich vědomostí, sledovány i tyto typy proteinů ?

### **Závěrečné hodnocení:**

Svou disertační práci prokázala autorka vynikající vazbu vědecké činnosti na klinickou praxi. Práce rozšiřují významně poznatky o fyziologii a patofyziologii kůže a dotýkají se i klinických dopadů v možnostech terapeutického ovlivnění řady kožních chorob se závažnými konsekvencemi a přináší perspektivní závěry. Autorka navíc prokázala znalosti v řadě publikací in extenso, týkajících se dané problematiky. V dokumentovaných pracích jde o zahraniční publikace v kvalitních zdrojích. Oceňuji vysokou metodologickou úroveň a prezentaci dosažených výsledků na mezinárodní úrovni. Literární reference uvádějí i předchozí publikace autorky a další české i zahraniční autory zabývající se danou problematikou. Velmi pozitivní je zahraniční spolupráce s renomovanými centry. Autorka tedy jasně prokázala předpoklady samostatné vědecké práce. Předkládaná disertační práce je srozumitelná, splňuje požadavky kladené na disertační práci a je aktuální. Z výše uvedeného proto plně doporučuji příslušné komisi FaF UK v Hradci Králové ke kladnému přijetí.

V Hradci Králové 30. 5. 2019

doc. MUDr. Miloslav Salavec, CSc.  
p ř e d n o s t a  
Klinika nemocí kožních a pohlavních  
FN a LF UK v Hradci Králové