

Mgr. Anna Nováčková

Studium látek ovlivňujících propustnost kožní bariéry

Disertační práce Mgr. Anny Nováčkové se zabývá výzkumem kožní bariéry, která zamezuje zvýšeným ztrátám vody a pronikání nežádoucích látek do kůže. Při některých onemocněních je kožní bariéra narušena, a proto je důležité pochopit její fungování a nalézt způsoby její obnovy. Kožní bariéra je předmětem intenzivního výzkumu (více než 600 odborných článků v loňském roce) a i proto lze téma disertační práce hodnotit jako vysoce aktuální.

Klasicky členěná disertační práce má celkem 105 stran, obsahuje 41 obrázků a cituje 227 literárních pramenů. V přílohách jsou kopie tří autorčiných publikací, které tvoří základ disertační práce.

Úvodní kapitola krátce představuje kožní bariéru, zmiňuje její význam i možnosti jejího narušení za účelem usnadnění prostupu léčiv přes kůži. V úvodní kapitole jsou rovněž podrobně specifikovány dílčí cíle práce. Teoretická část disertační práce se věnuje lidské kůži, jejímu složení a biosyntéze lipidů kožní bariéry. V dalších odstavcích jsou diskutovány možnosti ovlivnění propustnosti kožní bariéry a experimentální přístupy pro její zkoumání. Zpracování teoretické části považuji za velmi zdařilé - je sepsána čtivě, text je vhodně ilustrován obrázky a jednotlivé části působí vyváženě. Úvodní kapitoly Experimentální části obsahují stručný soupis použitých sloučenin a přístrojů. Drobnou výtku mám k absenci informací o čistotě chemikálií a nedostatečné specifikaci použitých lipidů, ze které není zřejmá struktura acylových řetězců (tj. počet uhlíků a počet a poloha dvojných vazeb). Na následujících 33 stranách textu jsou podrobně popsány experimenty a jejich výsledky. Lipidové modely posloužily pro studium uspořádání lipidů v závislosti na pH a pro sledování efektu β -glukosidázy a PAMAM dendrimerů na kožní lipidy. In vitro modely se uplatnily při zkoumání kožních onemocnění a studování vlivu fibroblastů na homeostázu kožní bariéry. Ex-vivo modely se aplikovaly na výzkum dvou tříd látek ovlivňujících permeaci - syntetických derivátů terpenů a dendrimerů. Závěrečná kapitola pak shrnuje a diskutuje získané výsledky a poznatky.

Po formální stránce nemám zásadní výhrady, práce obsahuje minimum překlepů a chyb. Drobné výtky k názvosloví jsou v příloze tohoto posudku. Poněkud netradiční je zvýraznění důležitých částí textu tučným písmem. Tato grafická úprava sice přispívá k přehlednosti, avšak její použití je vhodné spíše pro učební texty než pro odborné statě. Za nezvyklé považuji i úvodní odstavce hlavních kapitol, kde je zmíněno o čem bude dále pojednáno (např. „V experimentální části je nejprve souhrnně uveden seznam chemikálií, materiálu a přístrojů ...“). Tyto odstavce považuji za nadbytečné. Oceňuji pečlivě zpracovaný seznam zkratk, kterému k dokonalosti chybí jen zahrnutí zkratk „TEER“ a „LE“.

Celkově hodnotím disertační práci velmi kladně. Autorka otestovala několik modelů kůže a kožní bariéry a využila komplexní přístup zahrnující několik experimentálních metod včetně měření povrchového tlaku monovrstev, sledování uspořádání lipidů pomocí infračervené spektroskopie a rentgenové difrakce, chemických analýz pomocí HPTLC a permeačních experimentů ve Franzových difuzních celách. Práce vznikla ve spolupráci se zahraničními pracovišti a vyústila v několik publikací v prestižních časopisech. Mgr. Anna Nováčková je autorkou celkem pěti článků, u jednoho z nich je uvedena jako jeden ze dvou prvních autorů. Svůj výzkum prezentovala i formou přednášek a plakátových sdělení na několika tuzemských a zahraničních konferencích.

Výsledky dosažené v disertační práci jsou prezentovány jasně, navíc většina z nich byla publikována a tak již prošla náročným a nezávislým recenzním řízením. K práci mám proto dotazy spíše obecnější povahy:

1/ Lipidom kůže je znám velkou variabilitou lipidových struktur. Kromě lipidů se sudým počtem uhlíkových atomů jsou běžně přítomny i ty s lichým počtem uhlíků, methylovým větvením a neobvyklými polohami dvojných vazeb. Zajímalo by mne, jestli tyto neobvyklé lipidy mají nějaké specifické funkce v kožní bariéře a jak ovlivňují uspořádání lipidové matrix. Byly takové lipidy zahrnuty do experimentů v disertační práci?

2/ V disertační práci byly měřeny izotermy, tedy křivky závislosti povrchového tlaku na ploše molekuly. Jaký je fyzikální princip měření s Wilhelmyho destičkou? Jakým způsobem se vypočítá počáteční hodnota MMA (*Mean Molecular Area*)?

3/ V rámci disertační práce byly testovány terpeny a dendrimery jako enhancery kožní permeace. Zajímalo by mne, zda lze podle struktury látky odhadnout, jestli se bude chovat jako „dobrý“ nebo „špatný“ enhancer. Jinými slovy, jak se postupuje při hledání nových enhancerů? Je to cesta pokusu a omylu, nebo naopak cesta racionálního návrhu vhodné molekuly?

Závěrem rád konstatuji, že předložená disertační práce Mgr. Anny Nováčkové významným způsobem přispěla k poznání kožní bariéry. Výsledky byly publikovány v renomovaných odborných časopisech a prezentovány na konferencích. Podle mého názoru uchazečka dostatečně prokázala připravenost k samostatné tvůrčí činnosti, a proto jeho disertační práci **doporučuji přijmout k obhajobě.**

V Praze dne 17. května 2021

.....

doc. RNDr. Josef Cvačka, Ph.D.

PŘÍLOHA: SEZNAM DROBNÝCH NÁZVOSLOVNÝCH NEPŘESNOSTÍ

Str. 15: Dle platného názvosloví by se název sloučeniny CholE měl psát s pomlčkou, tedy cholesteryl-palmitát (analogicky pro CholS, cholesteryl-sulfát).

Str. 15, 41: Výrazem „chlorovodíková sůl“ je zřejmě míněn hydrochlorid.

Str. 19: Pro triglyceridy je vhodnější používat označení triacylglyceroly.

Str. 19: Výraz „estery vosků“ nedává smysl. Zřejmě jsou míněny voskové estery.