



Oponentský posudek na disertační práci

Mgr. Júlia Tomšů (née Pajorová)

v doktorském studijním programu Fyziologie a patofyziologie člověka na 2. LF UK v Praze

s názvem

“Interakce kožních a kmenových buněk s nanovláčennými polymery pro konstrukci kožních náhrad”

Oponent:

Prof. MUDr. David Sedmera, DSc.
Anatomický ústav 1. LF UK

Disertační práce Mgr. Júlie Tomšů, vypracovaná v anglickém jazyce pod vedením Doc. Bačákové na FgÚ AV ČR, představuje komentovaný soubor sedmi sedmi prací, publikovaných v oponovaných odborných časopisech s IF, z nich jsou dvě prvoautorské a další se sdíleným prvním autorstvím. Jsou použita i data z dalšího, připravovaného článku.

Cílem zde předkládané práce v rámci OR Fyziologie a patofyziologie člověka bylo vyvinout a zhotovit dvouvrstevnou, částečně prevaskularizovanou, náhradu kůže na bázi přírodního polymeru, osídlenou různými typy buněk (keratinocyty, fibroblasty, endotelové buňky a pericyty). Použity byly dva typy membrán – první na bázi PLA/PLGA, a druhý z nanovláčenné celulózy.

Metodicky byly použity standardní *in vitro* techniky buněčné kultivace. Fyzikální metody přípravy testovaných substrátů se jeví jako špičkové. Kladně zde hodnotím pečlivou charakteristiku používaných membrán, a to jak z hlediska morfologického včetně kvantifikace průměru, délky a orientace vláken a jejich hustoty, tak rovněž jejich mechanických vlastností, jež jsou důležité pro následné praktické využití takto připravených kožních náhrad. Interakce buněk se substráty a jejich metabolická aktivita a diferenciací byly hodnoceny kombinací morfologických zobrazovacích metod (rastrovací elektronová mikroskopie, konfokální mikroskopie) a biochemických technik (spektrofotometrické měření metabolických produktů).

Institute of Anatomy

Head: Assoc. Prof. Ondřej Naňka, MD, Ph.D.

128 00 Praha 2, U Nemocnice 1563/3

Phone: +420 224 965 780 Fax / Message: +420 224 965 770

E-mail: anat@lf1.cuni.cz

Vlastní výsledky jsou pak popsány v sedmi primárních publikacích v recenzovaných časopisech s dobrým IF, což vypovídá o kvalitě prezentovaných dat. Podíl autorky na tomto výzkumu je vždy přesně specifikován, a spočíval kromě vlastní práce i vy vývoji membrán, metodik, hodnocení dat a přípravy publikací. Práce jsou výsledkem bohaté spolupráce laboratoře školitelky s vědci z Fyzikálního ústavu, VŠCHT, TUL Liberec, Lékařskou fakultou UK v Plzni, kteří se podíleli na přípravě testovaných vzorků (polymery, konzultace stran modifikace povrchu). Nutno vyzdvihnout rovněž spolupráci se zahraničním pracovištěm (univerzita v Tampere, Finsko), kde byla Mgr. Toměšův opakovaně na stáži.

Získané výsledky ukázaly na důležitost volby potahu jednotlivých vláken (kolagen, fibrin, fibronectin) a rozdílné preference různých buněčných linií (fibroblasty vs. keratinocyty). Typ, ale i forma potahu, pak ovlivňuje proliferaci a diferenciaci těchto buněk. Dále byla studován i migrační potenciál buněk do gelové fáze a jejich následná diferenciaci a kontrakce gelu. Pro optimální přijetí celularizované kožní náhrady o smysluplné tloušťce je pak žádoucí její vaskularizace pro zásobení buněk kyslíkem a živinami. V tomto smyslu byl přidán další buněčný typ, a to endotelové buňky – buď HUVEC, nebo získané z kmenových buněk tukové tkáně aspirací. Kultivace takto dvojvrstevných typů náhrad ve dvou fázích je pak podle mého názoru hlavním přínosem předkládané disertace a má významný translační potenciál.

Po formální stránce je práce (psána v angličtině) přehledná, seznam použitých zkratk je hned na začátku. Je členěna standardně do obsáhlého úvodu (21 stran), deklarace cílů práce (1 strana), přehledně a výstižně popsaných metodik dokládající zkušenostech autorky s laboratorní prací i statistickou analýzou (15 stran), komentáře k vlastním výsledkům (26 stran) a diskuse (9 stran). Závěry na jedné a půl straně pak vše pěkně shrnují, a následuje obsáhlý seznam literatury (257 citací). Po této stránce nemám práci co vytknout. Cíle práce jsou jasně definovány jejich naplnění je pak předmětem vlastních publikací. Komentáře v diskusi odpovídají deklarovaným cílům a velmi pěkně shrnují stěžejní výsledky v kontextu současného poznání.

Jedinou výtku mám k požití fontů k obrázkům v práci. Chápu preferenci autorky pro patkové fonty typu Times, ovšem po čase (cca za 20 let nejpozději) zjistí, že zvláště po jejich častém zmenšení a jpeg kompresí v časopise je jejich čitelnost, zejména na členitém pozadí mikrofotografií, výrazně horší než u bezpatkových fontů typu Arial či Helvetica. V časopisových člancích je toto vesměs ošetřeno, u černého textu na bílém pozadí není problém.

Závěrečné doporučení

Předložená disertační práce jednoznačně prokazuje předpoklady autorky k samostatné tvůrčí vědecké práci a k udělení titulu Ph.D. za jménem.

Otázky:

- 1) Jak si autorka představuje napojení „prevaskularizovaného“ štěpu na cévní zásobení příjemce? Toto není triviální problém, analogicky fakt, že mi k domu vedou dráty a doma mám rozvody elektřiny ještě automaticky neznamená, že mi jde v zásuvkách proud. V klinice se toto řeší transplantací kožního laloku s cévní stopkou, jsou zde nějaké studie pro tyto náhrady dokládající funkčnost tohoto složitě vypěstovaného uspořádání?
- 2) Je zde nějaký koncepční rozdíl ve struktuře náhrad pro čistý kožní defekt (např. po úraze) oproti krztí defektů po popáleninách nebo trofických? V práci jsou zmiňovány jednak anatomické poměry normální kůže a dále pak otázka hojení ran, což jsou ovšem dvě dosti odlišné situace. Prosím o dovysvětlení z pohledu experimentálního tkáňového inženýrství a pak případných klinických aplikací.

V Praze dne 31.7.2021

David Sedmera

Prof. MUDr. David Sedmera, DSc.

Anatomický ústav 1. LF UK

Email: david.sedmera@lf1.cuni.cz

Tel.: +420-224-965-941

URL: <http://anat.lf1.cuni.cz/pracovnici/sedmera.php>