

OPONENTNÍ POSUDEK

Dizertační práce Mgr. Júlie Tomšů (za svobodna Pajorové) „Interakce kožních a kmenových buněk s nanovláknými polymery pro konstrukci kožních náhrad“ shrnuje výsledky její vědecké práce v Oddělení tkáňového inženýrství, Fyziologického ústavu AVČR, v.v.i. v Praze, kde pracovala pod vedením doc. Bačákové. Cílem práce bylo vytvořit v laboratorních podmínkách dvouvrstevnou prevaskularizovanou kožní náhradu, kterou by tvořil kolagenový hydrogel na nanovlákněné membráně v kombinaci s různými typy buněk. Druhá část se pak zaměřila na přípravu dočasných krytí ran na bázi celulózy. Základem práce je 8 publikací s impakt faktorem, z toho 2 práce mají podobu review. Dr. Tomšů je první autorkou 2 primárních publikací a jedno prvoautorství je sdílené. Autorka se dále podílela na 3 publikacích s IF a 3 kapitolách v knize, které nejsou relevantní k tématu disertační práce. Ta má 122 stran bez příložených publikací a je psána v anglickém jazyce. Celá práce je tematicky členěná na 2 části, z nichž první část obsahuje 5 hypotéz, které postupně provádějí čtenáře přípravou vaskularizovaného konstruktů od počáteční přípravy povrchu nanovlákněné membrány pomocí kolagenového nebo fibrinového povrchu až po 3D konstrukty obsahující mezenchymové kmenové buňky derivované z tukové tkáně (ADSC) a to včetně jejich přípravy a charakterizace, endotelové HUVEC buňky uvnitř gelu a keratinocyty na povrchu materiálu. Chtěla bych ocenit zejména logiku příběhu, jednotlivé experimenty a metodiky na sebe postupně navazují a tvoří logický sled jednotlivých experimentů. V úvodu, který má 22 stran, autorka podrobně charakterizuje anatomii a fyziologii kůže, s přihlédnutím k patofyziologii hojení a patofyziologii ran. Další část úvodu zahrnuje tkáňové inženýrství kožních náhrad, komerčními počínaje a decelularizovanými nosiči konče. Následují pracovní hypotézy a cíle práce, které jsou opět rozděleny do 2 výše zmíněných tematických celků.

V kapitole Metody jsou shrnuty jednotlivé metodiky použité v disertační práci. Z kapitoly vyplývá, že autorka zvládla přípravu a povrchové modifikace nanovlákných membrán a kolagenových hydrogelů, kultivaci a hodnocení adheze a růstu různých typů buněk analýzu morfologie, viability a proliferace, imunocytochemii a zobrazování pomocí fluorescenční mikroskopie. Výčet metodik je doplněn použitými statistickými testy. Kapitola výsledky se skládá ze 2 částí, které zahrnují vytyčené cíle. První část je věnovaná přípravě dvouvrstevné prevaskularizované kožní náhradě, kde nejprve byla připravena kožní náhrada z biodegradabilní nanovlákněné membrány potažené proteiny. Doktorandka prokázala, že fibrinová nanovrstva zlepšuje adhezi a růst fibroblastů a ADSC, zatímco kolagenová vrstva svědčí keratinocytům. Poté byly získané poznatky využity při přípravě kolagenového gelu a nakonec byl vytvořen dvouvrstvý vaskularizovaný konstrukt napodobující dermis a epidermis. Ve druhém oddíle byla studována problematika kožních krytí na bázi celulózy potažené fibrinovými nanovrstvami nebo celulózovými nanovláknými s různým povrchovým nábojem. Vrstva anionických celulózových nanovláken zrychlila kolonizaci krytu, zatímco vrstva kationických vláken snížila adhezi a distribuci buněk. Na výsledkovou část navazuje diskuze, která porovnává výsledky s literaturou. Po odborné stránce má práce velmi dobrou úroveň, všechny vyšlé publikace, které jsou podkladem práce, jsou v impaktovaných časopisech a byly podrobeny recenznímu řízení. Součet IF těchto publikací je 54,567. Téma má přesah do aplikovaného výzkumu, neboť získané poznatky mohou být v budoucnosti využity humánní regenerativní medicíně.

Po formální stránce je práce pečlivě připravená, velmi edukativní, srozumitelně vysvětluje jednotlivá témata a je doplněná obrázky, z nichž některé jsou vlastním výtvořem autorky. Nedílnou součástí práce jsou příložené vyšlé publikace

K práci a do diskuze mám tyto otázky

1. V experimentech jste používali kolagen z potkaních ocásků nebo prasečí kolagen. Pokud by došlo na translaci do kliniky, lze použít prasečí kolagen,

- případně co by mohlo nahradit ten potkaní (protože měl trochu jiné vlastnosti než prasečí).
2. Zkoušel někdo potahovat nanovlákná jen nějakým syntetickým polymerem, který by měl jen definované peptidické sekvence, které jsou nutné pro vazbu s receptory (integriny)?
 3. V případě silné vrstvy fibrinu (mesh), zůstává tam zachovaná superiorita nanovláken? Není pak možné použít i nějakou třeba jen mikrovláknennou podložku?
 4. Zaujal mě dvojvrstevný vaskularizovaný konstrukt. Zkoušeli jste jej ještě optimalizovat použitím různých typů medií v čase?
 5. Je možný nějaký „up scale“ vašeho konstrukt, aby byl o velikosti použitelné v klinice?
 6. Plánujete, třeba i ve spolupráci s jiným partnerem, otestovat krytí ran i na nějakém in vivo modelu?

Závěrem lze shrnout, že Mgr. Tomšů v dizertační práci prokázala schopnost samostatné tvořivé práce, splnila vytyčené cíle práce, a proto doporučuji práci k obhajobě s cílem získání titulu PhD.

v Praze, 9.9.2022

doc. RNDr. Pavla Jendelová, PhD.