

Oponentský posudek

Doktorské studijní programy v biomedicině. **Obor:** Experimentální chirurgie

Doktorand: MUDr. Robert Zajíček

Název disertace: Vliv acelulární prasečí dermis na hojení termického poranění kůže.
Praha 2013.

Školící pracoviště: Klinika popáleninové medicíny 3. LFUK a FNKV Praha

Školitel: prof. MUDr. Radana Königová, CSc.

Předložená disertační práce zasahuje do oblasti, která je klíčovým problémem celého oboru popáleninové medicíny, to jest hledáním buďto dočasné nebo v ideálním případě trvalé náhrady kůže člověka, která byla poškozena či zcela zničena termickou noxou – popáleninovým úrazem. Jedná se tedy o stále vysoce aktuální problematiku dočasných kožních krytů trvalých náhrad. Disertace vznikla na pracovišti, které má vlastní bohaté zkušenosti získané za několik desítek let jednak činností výzkumnou a jednak činností klinickou. Předností tohoto pracoviště bylo vždy těsné spojení výzkumných aktivit s klinickou aplikací poznatků výzkumu, což umožňovalo vzájemnou zpětnou vazbu a významně potencovalo a obohacovalo činnost obou skupin jednoho pracoviště. Dr. Zajíček navázal úspěšně na tuto tradici, což je na jeho práci zřejmé a současně přínosné.

Jeho disertace se skládá ze dvou oddílů - části laboratorní, možno říci experimentální, a části klinické. Za hlavní cíl práce si stanovil prokázat a analyzovat vliv bezbuněčné prasečí dermis na hojení popáleninové rány. V úvodních kapitolách autor předložil stručný literární přehled problematiky, charakterizoval anatomické a funkční vlastnosti kůže ve vztahu k vývoji náhrad, vysvětlil princip hojení popáleninové rány, popsal a rozdělil hlavní typy kožních náhrad, včetně těch nejmodernějších, které jsou v současné době k dispozici. Zvláštní pozornost potom věnoval metodice získávání keratinocytů *in vitro* a jejich využití pro hojení popálenin *in vivo* právě v kombinaci jak s dočasnými kryty (XeDerma[®]), tak s široce meshovanými autotransplantáty pro trvalé přihojení. V kapitole materiál a metody je detailně rozebrán způsob izolace keratinocytů z kůže, jejich kultivace a diferenciaci. Přínosnou je kapitola vlastních výsledků, která je pečlivě a velmi podrobně zpracována, včetně vysoce kvalitní obrazové dokumentace ve formě histologických mikrosnímků nebo prezentace klinických případů. Dr. Zajíček studoval biologickou aktivitu XeDermy[®], jakožto acelulární xenogenní matrix, pomocí kultivace a diferenciaci keratinocytů v organotypické kultuře na rozhraní médium-vzduch. Histologickou a imunocytochemickou analýzou keratinocytů *in vitro* a *in vivo* prokázal, že růst a diferenciaci keratinocytů pěstovaných na XeDermě[®] (*in vitro*) a tvorba nové epidermis v hluboké dermální popálenině kryté XeDermou[®] (*in vivo*) jsou velice podobné. Bioaktivita XeDermy[®] byla prokázána její schopností stimulovat růst a diferenciaci keratinocytů. Jedná se o strukturu biologického původu s určitou pevností, čímž

je vytvořena trojrozměrná matrix složená z kolagenních a elastických vláken a současně s povrchem odpovídajícím bazální membráně. Tyto vlastnosti testované xenodermis umožňují adhezi, proliferaci, migraci a diferenciaci epidermálních buněk.

V klinické části práce použil Dr. Zajíček XeDermu[®] pro léčbu opařenin II.st. u dětí. U dvou srovnatelných skupin pacientů hodnotil rychlost a kvalitu hojení popáleniny při použití XeDermu[®] ve srovnání s tzv. standardním léčebným protokolem, kdy na pracovišti používají hydrokoloidní dočasný kryt Askina Derm[®]. V sledovaných parametrech prospektivní klinické studie našel jediný signifikantní rozdíl, což byla nutnost opakovaných aplikací hydrokoloidu. Toto však v praxi znamená důležitý závěr potřeby menšího počtu převazů a tím podaných celkových anestezií u dětí léčených pomocí XeDermu[®]. V klinické části dále dominuje popis využití XeDermu[®] v případě kriticky popáleného chlapce (90 % tělesného povrchu, III. stupeň) pro urychlení hojení odběrových ploch, což umožnilo opakované odběry autotransplantátů z jednoho místa a také zajištění epitelizacemimořádně velikých ok u široce síťovaných autotransplantátů, krytých nejprve suspenzí autologních keratinocytů a v další vrstvě XeDermou[®].

Následující kapitolou je diskuse, kde autor dobře apodrobně rozebírá jednotlivé výsledky vlastního pozorování a konfrontuje je s literárními poznatky i klinickými zkušenostmi. Cenným prvkem a přínosem této práce je syntéza a správná interpretace výsledků na úrovni mikroskopické, laboratorní a klinické. Rovněž dokumentace klinických výsledků histologickými vyšetřeními je jednoznačně průkazná a důležitá.

V závěru své práce doktorand konstatuje, že zkoumaná acelulární prasečí dermis XeDerma[®] je dočasným kožním krytem s výraznou schopností podpory epitelizace vhodným k léčbě popálenin. XeDerma[®] podporuje proliferaci a diferenciaci keratinocytů a tím urychluje spontánní epitelizaci u hlubokých dermálních postižení. V kombinaci s použitím autologních keratinocytů má zásadní význam při léčbě rozsáhlých popálenin využitím k rychlejšímu hojení odběrových ploch a ke krytí široce meshovaných autotransplantátů.

Po formální stránce je práce, ač útlá svým objemem (76stran včetně seznamu literatury), značně obsažná a bohatá na fakta, přičemž řada z nich je u nás takto prioritně publikovaných. Klasické členění práce je doprovázeno bohatým přehledem zahraniční i domácí literatury, vesměs z období posledních 5 - 8 let. Určitým nedostatkem je absence číslování literárních pramenů, když citace uváděné v textu jménem autora a rokem publikace jsou jednak méně přehledné a též poněkud obsolentní. Rovněž jednostranný tisk v knižní úpravě není běžným zvykem. Práce je psána dobrou češtinou, zřetelně a srozumitelně. V textu jsem našel jen minimum překlepů či nepřesností. Např. nezařazení několika zkratk v seznamu, uvádění jmen mikrobů bývá standardně kurzívou, s velkými písmenem napočátku, nikoliv nestandardními zkratkami. Označení rozsahu popáleného tělesného povrchu v procentech (%) se píše s mezerou za číslovkou. Tyto drobnosti však nikterak nesnižují celkové odborné kvality práce. Za příkladnou naopak mohu vyzdvihnout vynikající úroveň barevné fotodokumentace. Škoda jen, že její detailní popisky jsou někdy graficky méně přehledné. Dále bych považoval za správné, aby autor v závěru explicitně vyjádřil stanoviska k cílům práce. Učinil tak jednoznačně jen u hlavního cíle. Sám si však položil další 4 otázky,

kteře se staly sekundárními cíli. Přestože čtenář v textu, zejména v diskusi, odpověď na tyto otázky najde, jejich uvedení ve společném souhrnu s hlavním cílem by přispělo k přehlednosti. Vzhledem k tomu, že nejen léčba popálenin je výsoce týmová práce, považuji za určité pochybení neuvedení jmen autorů histologických vyšetření i mikroskopické fotodokumentace, stejně jako autora fotodokumentace klinických případů, v poděkování za spolupráci v úvodu práce. Možnost, že by si autor zhotovil veškerou fotodokumentaci jen sám, považuji za méně pravděpodobnou.

Závěr:

Dr. Zajíček sepsal kvalitní disertační práci, která se zabývá aktuální výzkumnou i klinickou problematikou. Práce je metodologicky dobře provedena; prokázala, že doktorand je schopen vědecky pracovat při formulaci cílů, stanovení metod řešení i vlastního provedení. Dosažené výsledky jsou objektivně kvalitně dokumentovány, adekvátně rozebrány a kriticky vyhodnoceny. Některé z nich jsou u nás prioritně publikovány a mají přímý klinický dopad pro klinickou praxi. Propojení laboratorních aktivit s přínosem pro klinickou praxi považuji za velký a žádaný přínos této disertace. Práce splňuje všechny požadavky kladené na tento typ vědeckého spisu, a proto **jidoporučuji přijmout k obhajobě**. Po jejím úspěšném obhájení doporučuji udělit MUDr. Robertu Zajíčkovi titul „Philosophiaedoctor“, ve zkratce PhD.

Doktorandovi bych rád položil následující otázky.

1. Kterou z použitých metod kultivace keratinocytů by považoval pro praxi za nejvýhodnější? Jak se v tomto světle (klinické aplikace) jeví možnost využití komerčně připravených kitů, např. Re-Cell[®] nebo Cell-Spray[®]?
2. Zda vidí nějaký prostor též pro užití keratinocytů allogenních, např. pro urychlení hojení podporou epitelizace (odběrových ploch)? Jak se dívá na možnost aplikace alogenních keratinocytů na trvalou dermální náhradu Integra[®] a podobné výrobky?
3. Zda by doporučil pro klinické využití xenotransplantáty připravené podle všech kritérií EATB (Evropské asociace tkáňových bank) splňujících požadavky příslušné Směrnice Evropského společenství?

Hradec Králové / Praha 17.11.2013


doc. MUDr. Leo Klein, CSc.