

Souhrn

Kyselina hyaluronová (KH) a kmenové buňky zubní dřeně (KBZD) jsou aktuálními výzkumnými tématy a jejich kombinované použití v rámci tkáňového inženýrství je nadějným směrem regenerativní medicíny. KBZD jsou mezenchymální populací kmenových buněk, které jsou získávány z měkkých tkání dřeňové dutiny zubu. Jejich výhodami jsou snadná dostupnost, vysoká proliferační aktivita a široký diferenciační potenciál. KH je extracelulární biopolymer vyskytující se napříč tkáněmi lidského těla včetně zubní dřeně a díky její biokompatibilitě a biodegradabilitě se jedná o vhodný materiál pro tvorbu buněčných nosičů. Degradací vysokomolekulárních (VM) řetězců KH, které jsou v tkáních enzymaticky štěpeny, dochází ke vzniku nízkomolekulárních (NM) fragmentů KH. V porovnání s VM KH vykazují NM frakce KH výrazně odlišné bioaktivní vlastnosti. Z tohoto důvodu je nutné posuzovat vliv KH na tkáně a buňky separátně pro její jednotlivé frakce.

V této práci jsou prezentovány výsledky dvou *in vitro* experimentů. První z nich byl zaměřen na vliv širokého spektra molekulárních hmotností KH (116 kDa, 540 kDa, 1500 kDa) na dvě linie KBZD. Tento pilotní experiment ověřil základní předpoklad, že buňky v prostředí zvolených molekul adherují, přežívají, prolifерují, zachovávají si svůj typický fenotyp a udržují si schopnost diferencovat osteogenním a chondrogenním směrem. Druhý experiment byl zaměřen na NM KH a její vliv byl testován na 5 liniích KBZD. Použity byly molekuly o velikosti fragmentů vznikajících při *in vivo* degradaci KH (800 Da, 1600 Da, 15 kDa). Po aplikaci KH do kultivačních médií byla u experimentálních skupin zaznamenána akutní redukce proliferační aktivity v porovnání s kontrolní skupinou ($p = 0,0033$, $p = 0,0033$, $p = 0,1416$). Redukce byla omezena pouze na pasáž, při které došlo k iniciálnímu kontaktu buněk s NM KH, a nebyla pozorována v dalších pasážích. Kumulovaný počet populačních zdvojení na konci experimentu se statisticky významně lišil ($p = 0,015$, $p = 0,0143$, $p = 0,0864$). KBZD kultivované v médiích s NM KH byly statisticky významně menší v porovnání s kontrolní skupinou ($p = 0,0078$, $p = 0,0019$, $p = 0,0098$). Relativní délka telomer byla v porovnání s kontrolní skupinou u experimentálních médií kratší u 4 z 5 linií, statisticky významný rozdíl byl zaznamenán u buněk kultivovaných v médiu s přídatkem KH o molekulární hmotnosti 800 Da ($p = 0,0275$, $p = 0,1416$, $p = 0,0864$). Všechny buňky si udržely vysokou expresi povrchových znaků typických pro KBZD (CD29, CD44, CD73, CD90). V porovnání s kontrolou bylo u experimentálních skupin zaznamenáno statisticky významné snížení exprese fenotypových znaků ($p < 0,05$; CD29, CD34, CD90, CD106, CD117, CD146, CD166). Buňky si i po dlouhodobé kultivaci v přítomnosti NM KH udržely znaky mezenchymálních KB a naivní nediferencovaný fenotyp.

Práce dokumentuje vliv NM KH na KBZD *in vitro*. Výsledky ukazují, že NM KH ovlivňuje jejich proliferační aktivitu, velikost, telomerázovou aktivitu a expresi fenotypových znaků. Závěry práce přinášejí významné poznatky o vlivu degradačních produktů KH, které je nutné zohlednit při dalším vývoji buněčných nosičů z KH pro KBZD.