

Oponentský posudek dizertační práce Inteligentní nanovlákná funkcionalizovaná růstovými faktory a krevními deriváty pro dermatologické aplikace

Autorka: MUDr. Ing. Karolína Vocetková

Oponent: Prof. MUDr. Petr Arenberger, DrSc, MBA, FCMA

Disertační práce MUDr. Ing. Karolíny Vocetkové s názvem Inteligentní nanovlákná funkcionalizovaná růstovými faktory a krevními deriváty pro dermatologické aplikace se věnuje funkcionalizovaným nanovláknovým systémům a jejich potenciálním dermatologickým aplikacím. Kandidátka velmi vhodně použila kombinace krevních derivátů s nanovláknovými systémy pro průkaz možnosti dodávání bioaktivních látek pro urychlení regenerace poškozené tkáně.

Dizertační práce je členěna do 13 kapitol a obsahuje 161 stran textu včetně příloh, 10 tabulek, 43 obrázků a 233 literárních zdrojů. Spis je pečlivě vypracován a koncepčně i rozsahem odpovídá požadavkům kladeným na dizertační práci. Po formální stránce k ní nemám připomínky.

Téma práce je vysoce aktuální a přínosné nejen z hlediska základního výzkumu, ale má i vysoký potenciál pro rychlý transfer do klinické praxe díky možnosti využití autologních krevních derivátů. Autorka v práci studuje vliv bioaktivních látek obsažených v trombocytech na *in vitro* kultivované fibroblasty a keratinocyty. Konstatuji, že jsem v práci shledal smysluplně navržené experimenty, které na sebe logicky navazovaly. Autorka nejen že dostatečně potvrdila efekt bioaktivních látek obsažených v trombocytech, ale přinesla i nové poznatky, zejména pokud se týká efektivity jejich působení v bezprostředním sousedství buněk.

Metodická část je srozumitelně popsána a zahrnuje jednak přípravu a charakterizaci trombocytů, dále pak i přípravu a charakterizaci nanovláknových nosičů, a také zajímavé varianty metod buněčného testování. Autorka nejprve hodnotila vliv krevních lyzátů na kultivované fibroblasty a keratinocyty a uzavírá, že vyšší koncentrace lyzátu v kultivačním médiu vykazuje negativní efekt na kultivované fibroblasty. Je velmi pozoruhodné, že právě opačně tomu bylo v případě keratinocytů. Za další zajímavý výsledek považuji studium efektů morfologie povrchu nosičů vyrobených metodami elektrostatického nebo odstředivého zvláknování na adhezi trombocytů a následnou buněčnou proliferaci. Autorka na povrch nosičů adherovala trombocyty a prokázala, že tím došlo k jejich aktivaci a vzniku fibrinové sítě. Fibrinová síť umožňovala zachycení uvolněných bioaktivních látek z trombocytů, což vedlo k prodloužení účinku růstových faktorů generovaných trombocyty. Tento efekt byl charakterizován jako krátkodobý.

Z pohledu klinické praxe je zajímavý efekt dlouhodobého uvolňování. Pro tento účel autorka uzavřela trombocytární lyzát do nitra nanovláknových nosičů a demonstrovala protražované uvolňování. Je třeba zdůraznit, že vliv působení bioaktivních látek z trombocytů prodloužil efektivní dobu jejich působení až na jeden měsíc.

Výsledky jsou přehledně uspořádány, statisticky zhodnoceny a adekvátně diskutovány. V sadě provedených experimentů byl nejen prokázán pozitivní vliv bioaktivních látek obsažených v trombocytech na testované buněčné linie, ale též multikomponentální efekt, pokud trombocytární deriváty byly použity pro funkcionalizaci nanovláknových nosičů. Takto funkcionalizovaná nanovlákná slouží nejen k buněčné adhezi, ale též jako zdroj kontrolovaného uvolňování látek stimulujících proliferaci v těsné blízkosti buněk, což vede zřejmě k velmi efektivnímu využití regeneračního potenciálu.

K předkládané práci mám následující připomínky a otázky:

1. Práce je rozsáhlá a obsahuje velké množství použitých metodik. Dle mého názoru je téměř jisté, že autorka nemohla celou práci realizovat sama. Žádám proto autorku o specifikaci její vlastní experimentální činnosti.
2. V práci je uvedeno, že zvolená metoda pro hodnocení proliferace melanocytů není vhodná vzhledem k širokému absorpčnímu spektru melaninu obsaženého v melanocytech. Jaké alternativní metody pro hodnocení proliferace v případě melanocytů jsou tedy vhodné a aplikovatelné?
3. V úvodní části je velmi rozsáhle popsán proces hojení ran a problematika chronického hojení. Navržené systémy jsou však hodnoceny pouze v *in vitro* podmínkách. Byly realizovány i *in vivo* studie?

Celkově práci hodnotím kladně. Má nepochybně přínos v oblasti základního výzkumu, avšak výrazně přesahuje i do jeho aplikované oblasti. Autorka dostatečně prokázala schopnost experimentální činnosti a kvalitního zhodnocení dosažených výsledků. Samotná práce pak prokazuje její schopnost vhodné dokumentace a uvedení výsledků do mezinárodního kontextu.

Navrhuji, aby po uspokojujících odpovědích na mé otázky a úspěšné obhajobě byla MUDr. Ing. Karolíně Vocetkové udělena akademická hodnost PhD.

V Praze dne 15.3.2019

Prof. MUDr. Petr Arenberger, DrSc, MBA, FCMA