

SOUHRN PRÁCE

Hlavním cílem práce bylo vyvinout metodiku přípravy chondrogenního štetu pro možné využití v léčbě poškozené kloubní chrupavky. Tento štět by měl být založen na kombinaci oporného materiálu (skefoldu) na bázi hyaluronanu s mezenchymálními kmenovými buňkami (MSC).

V prvním fázi projektu byl vytvořen přehled známých derivátů hyaluronanu s potenciálním využitím v medicíně. (Sedova, Knotkova et al. 2007) Na základě tohoto přehledu byl pro další využití vybrán hydrogel připravovaný síťováním tyraminového derivátu hyaluronanu působením peroxidázy (HA-TA skefold). Pro experimenty s MSC bylo třeba optimalizovat dostatečně bohatý, spolehlivý a eticky přijatelný zdroj buněčného materiálu. Tento zdroj byl nalezen a ověřen v podobě výplachů odběrových setů používaných pro odběry kostní dřene při transplantacích. (Dvorakova, Hrubá et al. 2008) V rámci projektu bylo nutné stanovovat viabilitu MSC. Na základě porovnání tří různých metod, byla vybrána jako nejvhodnější luminiscenční metoda založená na stanovení intracelulárního ATP, která respektuje specifity MSC – především morfologické změny v průběhu kultivace a nízké nasazovací hustoty. (Vistejnova, Dvorakova et al. 2009) V dalším kroku byl sledován vliv nativního rozpustného hyaluronanu na průběh chondrogenní diferenciaci MSC v modelovém peletovém kultivačním systému. Bylo zjištěno, že hyaluronan v rozmezí molekulové hmotnosti 100-1500 kDa nemá významný účinek na míru exprese základních genových a histologických markerů používaných pro hodnocení nástupu chondrogenese v tomto modelu. (Dvorakova, Velebný et al. 2008) Finální fáze projektu prokázala, že HA-TA skefold poskytuje vhodné prostředí pro osetí MSC a jejich chondrogenní diferenciaci navozenou standardním chondrogenním médiem. Tento proces může být podpořen přidávkem růstového faktoru BMP-5, nicméně se zvýšeným rizikem nežádoucího osteogenního vývoje.

Hlavní cíl práce byl splněn, byl vytvořen metodický aparát pro vývoj chondrogenního štetu. S jeho pomocí bylo demonstrováno, že doposud netestovaný skefold založený na HA-TA hydrogelu je vhodným materiálem pro přípravu štetu osetého MSC z kostní dřene.