

OPONENTNÍ POSUDEK ZÁVĚREČNÉ KVALIFIKAČNÍ PRÁCE

Autor závěrečné práce: Bc. Markéta Klíčová

Název práce: Vývoj dvouvrstvých vlákenných tkáňových nosičů s odlišnou smáčivostí povrchu pro zpevnění střevních anastomóz

Oponent práce Ing. Lucie Vištejnová, Ph.D.

Pracoviště oponenta Lékařská fakulta UK v Plzni

A. Kvalita abstraktu, klíčová slova odpovídají náplni práce	Velmi dobře (2)
B. Rozsah a zpracování rešerše	Výborně mínus (1-)
C. Řešení práce po teoretické stránce	Výborně mínus (1-)
D. Vhodnost, přiměřenost použité metodiky	Výborně mínus (1-)
E. Úroveň zpracování výsledků a diskuse	Velmi dobře (2)
F. Vlastní přínos k řešené problematice	Výborně (1)
G. Formulace závěru práce	Velmi dobře (2)
H. Splnění zadání (cílů) práce	Splněno
I. Skladba, správnost a úplnost citací literárních údajů	Výborně (1)
J. Typografická a jazyková úroveň (vč. pravopisu)	Výborně (1)
K. Formální náležitosti práce (struktura textu, řazení kapitol, přehlednost ilustrací)	Velmi dobře (2)

Komentáře či připomínky:

viz přiložený posudek

...pokračuje na straně 2

Celkové zhodnocení:

viz přiložený posudek

Otázky k obhajobě:

- 1) Pokud je za cíl vytvořit jednu stranu dvouvrstvy nesmáčivou a druhou smáčivou, ale zároveň do určité míry ve vodném prostředí nerozpustnou, jaké by mohly být další způsoby přípravy a charakterizace této vrstvy? Jaké další optimalizační kroky plánujete?
- 2) Jaké další parametry dvouvrstvy určené pro zpevnění střevní anastomózy ve fyziologických podmínkách břišní dutiny by mohly být pro funkci dvouvrstvy důležité? Je skutečně třeba, aby byla jedna vrstva smáčivá, tj. aby adherovala na vnější střevní stěnu, která je převážně bezbuněčná a tvořená vazivem?
- 3) Jak si autorka vysvětluje kontaktní úhel PCL vrstvy po modifikaci metanovým plazmatem $72 \pm 26.81^\circ$, jak je uvedeno v tabulce 5 na straně 64?

Celková klasifikace:

Práce splňuje požadavky na udělení akademického titulu, a proto ji doporučuji k obhajobě

Navrhuji tuto práci klasifikovat stupněm Výborně minus (1-)

V Plzni

dne 30. 5. 2018

Podpisem současně potvrzuji, že nejsem v žádném osobním vztahu k autorovi práce



podpis oponenta

OPONENTSKÝ POSUDEK K DIPLOMOVÉ PRÁCI

Název práce: Vývoj dvouvrstvých vláknenných tkáňových nosičů s odlišnou smáčivostí povrchu pro zpevnění střežních anastomóz

Pracoviště: Technická univerzita v Liberci, Fakulta mechatroniky, informatiky a mezioborových studií

Způsob řešení zadání diplomové práce:

Předložená práce měla za cíl vyvinout dvouvrstvý vláknenný tkáňový nosič s odlišnou smáčivostí povrchů pro zpevnění střežních anastomóz či pro zabránění ruptury anastomózy. Jako vstupní materiály byly použity polymery již dobře známé v tkáňovém inženýrství, a to hydrofobní poly-ε-kaprolakton (PCL) a hydrofilní polyvinylalkohol (PVA) a kyselina hyaluronová (HA). Dvouvrstvy byly kombinovány PVA/PCL a PCL/HA. Kombinace PVA/PCL byla připravena elektrostatickým bezjehelným zvlákněním z roztoků samostatných polymerů a vrstvy byly nanášeny v obou možných pořadích, tj. 1. PCL / 2. PVA; 1. PVA / 2. PCL. Kombinace PCL/HA byla připravena dvěma způsoby, tj. 1) elektrostatickým zvlákněním PCL z roztoku a elektrostatickým rozprašováním HA z roztoku (1.7 MDa, 0.3% w/w); 2) elektrostatickým zvlákněním PCL i HA z roztoků samostatných polymerů (roztok HA – 1.2 MDa, 0.5% w/w), kdy HA byla vlákněna ve dvou cyklech s následným manuálním rozprášením 10 ml roztoku HA na již 2x navlákněnou vrstvu pomocí difuzéru. Pro účely zvýšení hydrofobicity hydrofilních vrstev PVA a HA byly tyto vrstvy modifikovány studeným metanovým plazmatem.

Autorka roztoky polymerů a připravené vrstvy hodnotila celou řadou metod. U samostatných roztoků PCL, PVA a HA pro zvláknění byly změřeny jejich viskozity a povrchová napětí. Zvlákněné vrstvy byly kvalitativně hodnoceny pomocí skenovací elektronové mikroskopie (SEM) a následným měřením tloušťky vláken. Smáčivost (kontaktní úhel) vrstev byla sledována metodou přisedlé kapky destilované vody a adheze obou vrstev k sobě byla sledována měřením kritické síly nutné k oddělení vrstev. V případě HA vrstvy byla použita metoda gelové permeační chromatografie ke stanovení množství HA v PCL vrstvě. Vliv studeného metanového plazmatu na chemickou strukturu PVA a HA byl ověřen metodou FTIR. Cytotoxicita připravených dvouvrstev byla ověřena na linii myších fibroblastů NIH/3T3 analýzou jejich metabolické aktivity, proliferace a adheze na materiál. U některých metod je provedeno statistické zhodnocení pozorování.

Jako výstup práce byl připraven dvouvrstevný materiál, který měl jednu stranu nesmáčivou (vrstva tvořená PCL) a druhou stranu také nesmáčivou (HA + modifikace HA vrstvy studeným metanovým plazmatem).

Zhodnocení formální stránky diplomové práce:

Práce je psána spisovnou češtinou bez gramatických chyb a překlepů. Vlastní text práce zabírá 70 stran (bez referencí). **Abstrakt** postrádá standardní členění, tj. úvod, cíl, způsob řešení, výsledky, závěr. Obsahuje delší teoretický úvod, výčet použitých materiálů a jednu metodu přípravy vláknenných materiálů. Chybí metody hodnocení vrstev, výsledky a závěr. **Teoretická část**

přehledně popisuje hydrofilní a hydrofobní polymery používané k přípravě vláknenných nosičů, metodu elektrostatického zvlákňování a povrchové modifikace vláknenných vrstev se zaměřením na metodu plazmatickou. Do kapitoly o povrchových modifikacích je zahrnuta i metoda měření smáčivosti materiálu pomocí kontaktního úhlu. Tato metoda by si zasloužila být v samostatném oddílu obohacená o teorii smáčivosti materiálů obecně, zvláště, pokud je to hlavní vlastnost, kterou má vyvíjený materiál mít (dle zadání práce). Teoretická část je zakončena úvodem do stěvních anastomóz a související problematiky jejich ruptur. **Experimentální část** je trochu nešťastně dělena na 3 oddělené experimenty, což vede k mírným nesouvislostem a nepřehlednosti mezi experimentálními přístupy, i přesto, že tyto přístupy spolu souvisejí, a sama autorka se na tyto souvislosti v práci odkazuje, např. opakování odstavců s jednotlivými metodami či komentáře k výsledkům předchozích experimentů (čtenáře to nutí listovat zpět a hledat např. počty opakování, způsob srovnání, zvolenou kontrolu). Dílčí závěry jednotlivých experimentů nastiňují postupné řešení zadání práce, ale samotnou práci nezpřehledňují (čtenář se musí k předchozím závěrům vracet a hůře se hledají klíčové výstupy práce). V práci vznikl i mírný zmatek v číslování tabulek – např. odkaz na tabulku 3 na straně 50 odkazuje na tabulku na straně 51 s číslem 2 (tento posun v číslování dále pokračuje), či byly použity různé typy grafů pro znázornění tloušťky vláken připravených vrstev (histogram vs. krabicové grafy). **V diskusi** autorka správně srovnává získaná pozorování s ostatními autory, avšak někdy chybí zamyšlení nad vlastními výsledky a např. jejich souvislostí se zvolenou metodou nebo provedením metody (např. kontaktní úhel PCL vrstvy jednou vyšel $95,33 \pm 21,79^\circ$, jednou $109,55 \pm 15,37^\circ$ a jednou $88,63 \pm 20,29^\circ$). Autorka v diskusi správně navrhuje alternativní metody pro metody, které v práci nevedly k výsledku (např. metodu Right Angle Light Scattering pro kvantifikaci HA v PCL vrstvě). **V závěru** práce autorka shrne zvolený způsob řešení zadání práce, shrne získané výsledky a navrhne jiné způsoby řešení zadání práce.

Zhodnocení zvoleného způsobu řešení zadání diplomové práce:

Zadáním práce bylo připravit dvouvrstvou vláknenných materiálů s jednou stranou nesmáčivou a jednou stranou smáčivou, zhodnotit vlastnosti vrstev z pohledu smáčivosti a morfologie vláken, a optimalizovat vybrané polymery a procesní podmínky pro výrobu vláknenných vrstev s rozdílnou smáčivostí povrchu. Na konci práce byly získány čtyři varianty dvouvrstev – PVA/PCL; PCL/HA; PVA + plazmatická modifikace/PCL; PCL/HA + plazmatická modifikace. Zadání práce – jedna strana smáčivá a druhá nesmáčivá – splňovaly dvouvrstvy PVA/PCL; PCL/HA; PVA + plazmatická modifikace/PCL; poslední dvouvrstva PCL/HA + plazmatická modifikace měla oba povrchy nesmáčivé, a tedy nesplňovala zadání práce. Motivací k hydrofobizaci (a tedy ke snížení rozpustnosti) vrstev byla jejich přirozená rozpustnost ve vodném prostředí a správný autorčin předpoklad, že se smáčivé (hydrofilní) vrstvy po přiložení na vlhkou stěvní stěnu mohou rozpustit (v práci nebylo kvantifikováno). Autorka v práci správně analyticky postupuje – měření kontaktních úhlů připravených vrstev, zjištění obsahu HA v PCL vrstvě, kontrola chemické struktury vrstev po plazmatické modifikaci, kontrola cytotoxicity připravených vrstev *in vitro*.

Optimalizace parametrů a procesních podmínek výroby vláknenných vrstev s rozdílnou smáčivostí povrchu byla v práci zahájena (v práci je uvedena jedna koncentrace použitých roztoků, jedny podmínky elektrostatického zvlákňování či rozprašování, jedny podmínky zvýšení hydrofobicity hydrofilních PVA a HA vrstev) a vývoj bude pravděpodobně pokračovat optimalizací dalších parametrů, pravděpodobně i ve spolupráci s klinickým pracovištěm, což je pro vývoj biomedicínský vývoj vždy přínosem. V práci mohl být kladen větší důraz na hodnocení připravených vrstev. Kontaktní úhel (smáčivost) připravených vrstev je vždy měřen jen u jednoho typu vrstvy a není provedeno porovnání vrstev. Nejsou zvažovány další parametry, které mohou smáčivost povrchu obecně ovlivnit (drsnot povrchu, chemická nehomogenita povrchu v případě kompozitů, složení

tekutiny v kapce). Za zkoušku by stála rozvaha nad mechanickými, degradačními či absorpčními požadavky dvouvrstvy.

Celkové hodnocení práce:

Autora odvedla velký kus práce a zapojila se do vývoje materiálu s jasnou klinickou aplikací. Dokázala postihnout širokou škálu metod včetně kombinace technických a biologických analýz. Vypracováním předložené práce autorka prokázala schopnost provést naplánované experimenty, vyhodnotit a interpretovat naměřená data a navrhnout další postupy. Přes drobné výše uvedené výhrady hodnotím práci jako **výborně mínus (1-)**.

V Plzni, dne 30. 5. 2018



Lucie Vištejnová
Lékařská fakulta v Plzni
Univerzita Karlova

Otázky pro autorku:

- 1) Pokud je za cíl vytvořit jednu stranu dvouvrstvy nesmáčivou a druhou smáčivou, ale zároveň do určité míry ve vodném prostředí nerozpustnou, jaké by mohly být další způsoby přípravy a charakterizace této vrstvy? Jaké další optimalizační kroky plánujete?
- 2) Jaké další parametry dvouvrstvy určené pro zpevnění střevní anastomózy ve fyziologických podmínkách břišní dutiny by mohly být pro funkci dvouvrstvy důležité? Je skutečně třeba, aby byla jedna vrstva smáčivá, tj. aby adherovala na vnější střevní stěnu, která je převážně bezbuněčná a tvořená vazivem?
- 3) Jak si autorka vysvětluje kontaktní úhel PCL vrstvy po modifikaci metanovým plazmatem $72 \pm 26.81^\circ$, jak je uvedeno v tabulce 5 na straně 64?
- 4) Proč nebyla v hodnocení adheze a proliferace NIH/3T3 fibroblastů na kompozitních materiálech hodnocena i vrstva PCL/HA bez plazmatické úpravy. Autorka nepoužití i této vrstvy zdůvodňuje na straně 58 v závěru (HA vrstva se rozpustí ve vodném prostředí kultivačního média), ale minimálně by měla být ověřena míra adheze buněk na tuto vrstvu, stejně jako to bylo provedeno u vrstvy PVA, která se dle autorky také rozpustila.
- 5) Jak si autorka vysvětluje vyšší proliferaci, metabolickou aktivitu a adhezi NIH/3T3 buněk na PVA/PCL materiálu, když se PVA rozpustí, a zůstane jen hydrofobní (a tedy nepodporující buněčnou adhezi) PCL?