

Odborný posudek dizertační práce Mgr. Miroslavy Rysové

Nanovláknenný kryt s konjugovanou kyselinou hyaluronovou pro dopravu léčiv v hojení ran

Předkládaná práce jak v úvodu, tak i v teoretické části popisuje některé teoretické a zejména experimentální aspekty přípravy, charakterizace nanovláken s cílem získat biokompatibilní a biodegradabilní nanovláknenný kryt pro léčbu chronických ran. Hlavní cíle práce byly vhodně definovány a naplněny. Zvolené téma velice dobře rezonuje se současným stavem poznání v oblasti nanomateriálů a jejich využití v léčbě chronických ran.

Práce je psána v českém jazyce, je přehledně členěna a doplněna o úctyhodný počet citací. Kompilační část práce působí kompaktním dojmem, text edukativním způsobem čtenáře seznamuje s dílčími kroky přípravy (nano)materiálů vhodných pro biomedicínské aplikace, s celou škálou chemických modifikací a funkcionalizací s možností vazby bioaktivních molekul podporující hojení ran. Velice hodnotná je kapitola 4.4, kde studentka popisuje všechny možné způsoby modifikace a konjugace kyseliny hyaluronové. Autorka velice dobře a s přehledem komentuje současný stav ale i potenciál uplatnitelnosti nanovláknenných materiálů v biomedicíně. Čtivost však místy narušují příliš dlouhá souvětí a nezvyklá slovní spojení.

V experimentální části autorka prokázala schopnost prakticky využívat širokého spektra metod, přístrojů pro výrobu i charakterizaci nanovláken, mikroskopických technik, přístrojů. Výsledky jsou vždy doplněny o grafické nebo tabulkové formy vyjádření výsledků.

V další části posudku uvedu připomínky k textu práce a prosím o reakci dizertantky na ně:

1. V experimentální části, kapitola 5, str. 75 – není zřejmé, zda n - 100 se týká počtu měření průměrů nanovláken připravených v rámci jednoho experimentu, nebo zda se jednalo o 100 samostatných příprav, kdy se poté proměřoval průměr. Z popisu metody není zřejmé, jak se tento parametr experimentálně proměřoval. U grafů a tabulek s naměřenými parametry (kapitola 5.3.1 a 5.3.2) chybí vyhodnocení statistické ale i praktické významnosti. Na základě čeho dizertantka vyhodnocovala vlivy reakčních podmínek na sledované parametry nanovláken a jejich vhodnost pro klinické užití?
2. V kapitole konjugace kyseliny hyaluronové, obr. č. 42 a 57 chybí uvedení počtu opakování a základní vyhodnocení dat se směrodatnou odchylkou. Počet opakování chybí i u grafů č. 43, 45, 46, 49, 50. Podobně jsem ani v kapitole 6.3.5 a 7.3.3 nenašla informaci o tom, kolikrát byly experimenty opakovány.
3. Jak si autorka vysvětluje rozdílné výsledky antibakteriální aktivity pro dva vybrané bakteriální kmeny (viz. obr. 67)?

Poznámky k formální stránce textu dizertační práce:

1. Autorka neuvedla oproti zvyklostem přehled přístrojů a použitých chemikálií v samostatné kapitole na začátku experimentální části.
2. Seznam zkratk obsahuje anglické i české výrazy (N-hydroxysuccinimid, carbodiimid a další), nezvyklé je vysvětlení zkratky P123. Zaznamenala jsem chybu u zkratky NADPH, psaní velkých písmen u názvů bakterií.
3. V textu jsem narazila na překlepy, nepřesné vyjádření odborných termínů (např. etimologie), nestandardních slovních spojení (kontaminace ran x infekční komplikace ran),
4. V celé práci se opakuje špatné vyjádření číselných hodnot, kde je místo desetinné čárky použita desetinná tečka, a to včetně komentářů u obrázků.
5. V některých případech je ne zrovna obvyklé uvádění více citací až na konec rozsáhlého odstavce. Dohledatelnost uvedených informací a dat je poté ztížena.
6. Nejednotnost formátování textu v přehledu citačních zdrojů. Vzhledem k počtu citací je to téměř pochopitelné.
7. Špatný název obrázku č. 23.
8. Pozor na označení „krabičkové“ grafy.

Otázky a náměty k diskusi týkající se předložené problematiky. Prosím o stručné odpovědi.

1. U nanočástic se při jejich in vivo aplikaci uvádí, že na základě elektrostatických a hydrofobních sil dochází k navázání proteinů a dalších makromolekul krevní plazmy, resp. mozkomíšního moku na jejich povrch, slabě navázané proteiny jsou vytěšňovány jinými a postupně se ustaluje jejich skladba za vzniku stabilního proteinového obalu, tzv. tvrdé korony. Lze podobný efekt pozorovat u nanovláknenných materiálů, a nemyslím tím pouze při aplikaci na chronické rány.
2. V části o vlivu kyseliny hyaluronové autorka zmiňuje rozdílný efekt na imunitní systém člověka u řetězců lišící se délkou. Mohla by studentka popsat, zda je podobný vliv, tj. biokompatibilita/toxicita, degradovatelnost a vliv na funkční systémy lidského organismu, pozorován i u nanovláken anorganického původu?
3. Mohla by studentka okomentovat svůj několikaměsíční pobyt v Trinity College Dublin, v Irsku, kde se zapojila do výzkumu hydrogelů pro regeneraci meziobratlových plotének.

Na závěr bych ráda zdůraznila, že uvedené připomínky a náměty jsou pouze inspirativní a nesnižují nijak zásadně odbornou úroveň předložené práce. Kvalitu a hlavně aktuálnost práce dokládají hojné publikační a prezentační výstupy, 1 český patent, spoluautorství u 4 dalších patentů. Zde však musím zmínit, že v přehledu nejsou odborné články, kde by dizertantka byla první autorkou. Na druhou stranu je zřejmý široký záběr experimentálních dovedností v oboru výroby a

charakterizace nanomateriálů. Mgr. Rysová je první autorkou práce, která je v současné době v recenzním řízení. Není uvedeno, do jakého časopisu byla práce submitována.

Dizertantka prokázala schopnost popsat vymezenou problematiku, řešit složité vědecké problémy a pro jejich řešení využívat nejmodernější postupy. Autorka splnila vytčené cíle práce beze zbytku. Vzhledem k uvedenému doporučuji práci přijmout k obhajobě a Mgr. Rysové po úspěšné obhajobě udělit titul Ph.D.



V Pardubicích 16. 2. 2022

prof RNDr. Zuzana Bílková, Ph.D.

OPONENTSKÝ POSUDEK DISERTAČNÍ PRÁCE

Téma: **Nanovláknenný kryt s konjugovanou kyselinou hyaluronovou pro dopravu léčiv v hojení ran**

Autorka: **Ing. Miroslava Rysová**

Ústav nových technologií a aplikované informatiky
Fakulta mechatroniky, informatiky a mezioborových studií

Technická univerzita v Liberci

Vedoucí: doc. Ing. Lenka Martinová, CSc.

Oponent: doc. PharmDr. Jan Gajdziok, Ph.D.

Ústav farmaceutické technologie, Farmaceutická fakulta, Masarykova univerzita

Aktuálnost a význam tématu disertační práce:

Autorkou, vedoucí i školícím pracovištěm bylo zvoleno výzkumně vysoce aktuální téma týkající se vývoje nanovláknenného krytí na rány, připraveného pomocí elektrostatického zvláknování anorganického materiálu na bázi oxidu křemičitého, a jeho následná povrchová funkcionalizace roubováním aminoskupin silanizací s cílem o konjugaci kyseliny hyaluronové, jako kroku vedoucímu ke zvýšení možnosti vazby hydrofilních kationtových antibakteriálně působících léčiv. Téma lze charakterizovat jako multioborově významné s přesahy od materiálového inženýrství až po biomedicínské využití, především v terapii chronických kontaminovaných ran, jakožto jednoho z široce diskutovaných zdravotnických problémů současnosti.

Charakteristika disertační práce:

Předložená disertační práce je sepsána v češtině, v rozsahu 160 stran. Obsahuje celkem 67 obrázků a grafů, a 4 tabulky. Má klasické členění kvalifikačních prací tohoto typu, které sestává z úvodu; teoretické části zaměřené na: hojení ran s využitím nanomateriálů, přípravu

nanovláken elektrostatickým zvlákňováním, sol-gel metody, biokompatibilitu a biodegradaci křemičitých materiálů, přípravu nanovláken sol-gel metodou a poslední kapitolu věnovanou kyselině hyaluronové. Teoretická část práce je rozsahově adekvátní a poskytuje řadu cenných informací o řešeném tématu. Detailní zpracování teoretické části práce dokumentuje erudovanost uchazečky a její velmi dobrou orientaci v dané problematice.

Na teoretickou část navazuje část experimentální obsahující tři hlavní podkapitoly. První část experimentu je zaměřená na přípravu a charakterizaci křemičitých nanovláken, druhá na konjugaci kyseliny hyaluronové a poslední na hodnocení interakcí nanovláken s modelovými léčivy. Každá z těchto experimentálních kapitol je dále vhodně členěna na cíle, metodiku a použitý materiál, prezentaci a diskutování získaných výsledků a následně i jejich přehledné shrnutí. Na experimentální část práce navazuje celkový závěr, u něhož oceňuji nastínění dalších fází experimentální činnosti, vedoucích k zodpovězení otázek, které v průběhu řešení vyvstaly. Diskuse výsledků je poměrně podrobná a logicky členěná, občas by bylo přínosem získaná data více konfrontovat s vědeckou literaturou. Seznam citované literatury zahrnuje celkem 325 položek s převahou zahraničních zdrojů do 10 let stárí.

Formální připomínky:

Význam a aktuálnost řešené problematiky by v práci mohly být doloženy např. získanými grantovými projekty, uvedením kooperujících pracovišť atd.

Z formálního hlediska v práci postrádám jakékoliv odkazy na publikování výsledků a zmínku o publikační aktivitě uchazečky. Vzhledem k mezioborovosti práce by toto prospělo snazšímu zhodnocení relevance a kvality získaných dat, kterých je velké množství. Také by dle mého názoru bylo vhodné uvádět podíl autorky na provedených experimentech. Současná vědecká práce je nepochybně založená na týmové spolupráci, ale při posuzování splnění kvalifikačních kritérií uchazečky je toto nezbytné.

Na začátku práce by bylo vhodné vytýčit cíle, kdy jejich dosažení by pak měl shrnovat závěr. V tomto případě lze sice cíle vyčíst z abstraktu a popisu jednotlivých experimentálních podkapitol, ale i tak si myslím, že toto má být nadefinováno na začátku práce.

Pro získání uceleného přehledu o zpracovávané problematice by bylo vhodné jednotlivé dílčí teoretické kapitoly logicky provázat a propojit. Nyní působí jako izolované celky bez definování vztahu k okolním kapitolám, což omezuje pochopitelnost a orientaci v práci.

I přes specifika každého vědního oboru je vhodné se přidržet zaužívaných pojmů a termínů, kdy např. „*doprava léčiva*“ není termín správný a mělo by být používáno spíše doručení nebo

přívod. V biomedicínských oborech je používáno spíše krytí než *kryt*. Obdobně – buněčné linie ne *buněčné typy*; nevhodný termín *složení infekce*; cévní síť nebo řečiště, ne *zasítění*; venózní etiologie ne *etimologie*; lymfedém s m ne *n* na konci; materiál *dopovaný* léčivem; biotechnologická produkce HA ne *bakteriální*.

Obrázky by měly být větší, a popisky v nich uvedené přeloženy do češtiny, když jsou v češtině jejich názvy (např. Obr. 1, i jinde).

Číslování literárních citací v závorkách v textu není vždy ve správném pořadí. Doporučil bych omezit se pouze na zdroje, jejichž vědecká relevance je zajištěna peer review procesem, mezi něž např. VŠ kvalifikační práce nepatří.

Tabulka 1 citovaná na konci s. 33 – jde o Tabulku 2.

Citace obrázků v textu by měly předcházet jejich prezentování (chyba např. s 36 Obrázek 11).

V česky psaném textu by měly být používány desetinné čárky ne tečky.

Bývá obvyklé, že se uvádějí max 2 grafy, obrázky nebo jiné vizualizace výsledků na jednu stranu, což v tomto případě není dodrženo a omezuje se tak přehlednost a možnost odečítání hodnot.

Bylo by vhodné přidat legendu kódování vzorků pro snazší orientaci ve výsledcích.

Dotazy k odborné diskusi:

- Tvorba jizvy po hojení rány a kontraktury s tím spojené jsou obecně velkým problémem u rozsáhlejších defektů tkáně. Mají nanovláknenná krytí potenciál stát se i tzv. scarless wound healing materiály?
- Proč je v Obr. 2 prezentována pouze analýza dat do roku 2016? Za dalších 5 let jistě došlo k pokroku v široce diskutované oblasti nanomateriálů vhodných pro hojení ran. Můžete prosím přiblížit nejmodernější trendy?
- Jsou již nanovláknenná krytí reálně užívána v klinické praxi a jaká?
- Můžete prosím přiblížit mechanismus působení cetylprimethylamoniumbromidu (CTAB) jako porogenu (s. 43)?
- Můžete prosím blíže popsat, jak je myšlen pojem „zahuštění destilací“ (s. 67 a jinde)?
- Jak přesně probíhá hodnocení specifického měrného povrchu dle metodiky uvedené na s. 69?
- Je možné použít i jinou metodu např. BET pro tyto materiály?
- Proč byla zvolena právě použitá ATB a bakterie na nichž byla účinnost testována?

Závěr

Ing. Miroslava Rysová vypracovala disertační práci na vysoce současné mezioborové téma, založenou na rozsáhlé experimentální vědecké činnosti prováděné v průběhu doktorského studia. Vytýčené cíle práce v podobě optimalizace přípravy křemičitých nanovláken a jejich povrchové modifikace kyselinou hyaluronovou za účelem zlepšení vazby zejména hydrofilních kationtových léčiv byly dosaženy, což dokumentují prezentované výsledky a shrnuje jasný závěr. Kladně hodnotím rozsáhlý experiment s kvalitní metodikou a přehledným popisem výsledků doplněný o diskusi, a široký záběr práce s multidisciplinárním přesahem a dobrým potenciálem pro praktické uplatnění získaných materiálů v medicínské oblasti. Prokázána byla také schopnost uchazečky pracovat s odbornou a vědeckou literaturou, využít informací pro vlastní samostatnou vědeckou činnost, schopnost dosažené výsledky zhodnotit a interpretovat je do adekvátních závěrů. Úroveň práce a celkový dojem z ní určitým způsobem degradují formální a stylistické chyby, které ovšem nesnižují její odbornou úroveň.

Z uvedeného se domnívám, že předložená disertační práce splňuje požadavky kladené na práci tohoto typu a doporučuji tuto práci k obhajobě.

V Brně, 10. 2. 2022

doc. PharmDr. Jan Gajdziok, Ph.D.