



POSUDEK OPONENTA DIPLOMOVÉ PRÁCE

Oponent práce: **RNDr. Lucie Korecká, Ph.D.**

Název práce: **Polymerní biomateriály jako nosičový systém enzymů v regenerativní medicíně**

Autor práce: **Bc. Veronika Kratochvilová**

Vedoucí práce: **Mgr. Marcela Slováková, Ph.D.**

Cílem diplomové práce studentky **Veroniky Kratochvilové** byla příprava nanočástic z polysacharidu chitosanu a v dalším kroku vazba enzymu kolagenázy na připravené částice. Záměrem bylo připravit biodegradabilní nanomateriál, který by mohl být využitelný pro hojení ran. Vedle nanočástic z chitosanu byly připravovány i nanočástice z chitosanu a kyseliny hyaluronové. Zároveň byla kolagenáza vázána i na jiný typ nosiče, a to chitosanová nanovlákná.

Diplomová práce je standardně členěna na teoretickou, experimentální a výsledkovou a diskuzní část. Práce je doplněna 23 obrázky a 12 tabulkami. Pro zpracování teoretické rešerše studentka použila 49 literárních zdrojů, kdy se jedná o vědecké práce.

Teoretická část má rozsah 34 stran, což je pro diplomovou práci adekvátní rozsah. V teoretické části se studentka zabývá podrobně problematice vzniku ran, fází hojení a debridementu. Kolagenáza a její role v hojení ran není vypíchnuta do samostatné kapitoly, což by této části dodalo na přehlednosti. I problematika přípravy chitosanových nanočástic by mohla být rozpracována podrobněji, zejména s ohledem na to, že tím se studentka v rámci experimentální práce zabývala. I konkrétních aplikací takovýchto nosičů by bylo dobré zmínit více, aby teorie korespondovala s experimenty.

- V případě vypracování rešerše bych doporučila umístit odkazy na literaturu přímo za informace v textu. V teoretické části se vyskytují dlouhé úseky a až na konci odstavce jsou uvedené všechny odkazy, ze kterých bylo pro danou část čerpáno. Dohledání nějaké konkrétní informace je pro čtenáře složitější a je nezbytné projít všechny uvedené zdroje.
- V textu se vyskytují některé stylistické nepřesnosti a překlipy.
- Str. 42, odst. 2 – Nanočástice z chitosanu a HA, která se objevuje na povrchu, jsou vhodné pro léčbu osteoartrózy. Dochází k cílenému vycytání nanočástic pomocí receptorů CD44, objevujících se převážně v chondrocytech – Zajímalo by mne, zda studentka ví, v čem spočívá léčebný účinek?

Experimentální část je zpracována standardně a k dané části nemám výhrady.

Výsledková část obsahuje komentované a diskutované výsledky experimentů, které jsou podloženy grafy a obrázky. Z výsledků je patrné, že studentka zvládla všechny nezbytné metody pro zdárné dokončení práce. Přesto mám k této části několik dotazů nebo připomínek:

- I ve výsledkové části jsou určité stylistické nepřesnosti – např. str. 64, kap. 4.1 – není správné vyjádření, že „byly optimalizovány parametry jako je kinetika aktivity kolagenázy“...správně jsou určovány kinetické parametry enzymové reakce.
- Str. 64-65, sledování vlivu koncentrace vápenatých iontů na aktivitu kolagenázy, kdy jako nejvhodnější se ukázalo s ohledem na dosažené výsledky 25 mmol/l. Doporučila bych větší počet opakování než 2, při porovnání chybových úseček je zřejmé, že ten efekt zvýšené koncentrace není až tak významný (nejvyšší hodnota u 5 mM a nejnižší hodnota u 25 mM jsou téměř stejné).
- Str. 66 – studentka píše, že při koncentraci substrátu 0,9 mM může být inhibice reakce substrátem. Je to obvyklé pro daný systém? Setkala jste se s tím v literatuře? Může být i inhibice produktem reakce, pokud není odčerpáván.
- Str. 66, dole – u nejnižší použité koncentrace substrátu 0,35 mM aktivita kolagenasy s časem klesala, zřejmě vlivem úbytku enzymu nebo inhibice – Jak mohlo dojít k úbytku enzymu? Inhibici studentka zmiňuje u vysoké koncentrace substrátu..kdy tedy dochází k inhibici?
- Str. 67 – graf 2 neukazuje vliv objemu na reakci, řeší koncentrace substrátu.
- Kinetika reakce byla měřena pouze jedenkrát? Křivky jsou pro případné vyčíslení K_m a V_{max} nepoužitelné.
- Str. 72 – používané vyjádření „DLS velikosti vzorků částic“ není přesné vyjádření, stejně jako měření DLS částic (str. 78)
- Str. 78 – „stabilita částic z chitosanu I s poměrem k TPP 2:1 a 2,5:1 ve všech prostředích se jevila jako velmi dobrá“. Při pohledu na grafy 8 a 9 (str. 81) mi toto tvrzení nepřijde správné. Zejména pokud se zaměříme na poměr 2:1 RV.
- Str. 89 – z výsledků je patrné, že v průběhu imobilizace docházelo k agregaci. Byl zkoušen jiný způsob vazby než karbodiimidová metoda? S ohledem na funkční skupiny by mohly být využity –OH skupiny pro vazbu. Nebo to možné není?

Závěrem bych ráda uvedla, že studentka splnila zadání a práci **doporučuji k obhajobě**. Nicméně k výše uvedeným výtkám hodnotím **VELMI DOBŘE**.



RNDr. Lucie Korecká, Ph.D.