



UNIVERZITA KARLOVA
Lékařská fakulta
v Hradci Králové

OPONENETSKÝ POSUDEK DISERTAČNÍ PRÁCE

MUDr. Ing. Zdeněk Bureš: „Příprava, studium vlastností a potenciální využití vybraných nanokovů (Au, Ag, Cu)“

Univerzita Pardubice, Fakulta chemicko-technologická

Doktorský studijní program Chemie a technologie materiálů

Studijní obor Chemie a technologie anorganických materiálů

Školící pracoviště: Katedra obecné a anorganické chemie

Školitel: prof. Ing. Miroslav Vlček, CSc.

Oponent: prof. Ing. Zdeněk Fiala, CSc.

Posudek obsahuje čtyři stránky a může být interpretován pouze jako celek

Hradec Králové, únor 2025

Aktuálnost a význam tématu

Téma práce je bezesporu aktuální. Nanomateriály jsou fascinujícím fenoménem naší doby. Hlavním důvodem jejich velké popularity jsou unikátní fyzikální a chemické vlastnosti, kterými se významně odlišují od charakteru stejných chemických látek v makroměřítku. Nanomateriály se svými rozměry (a z nich vyplývajícími vlastnostmi) nacházejí v oblastech mezi makro-látkou, pro kterou platí klasické zákony fyziky a atomárními nebo molekulárními stavy, pro které platí fyzika kvantová. Nanomateriály našly široké uplatnění v řadě výrobních odvětví, včetně elektroniky, zemědělství, potravinářství, kosmetiky, farmacie a lékařství.

Jako každá jiná lidská aktivita, mohou i nanomateriály za jistých okolností představovat zdroj nepříznivých zdravotních dopadů. Díky velmi malým rozměrům nanomateriálů dochází, po jejich rychlé absorpci do systémové cirkulace člověka, k distribuci prakticky do všech tělních orgánů a tkání a k možnému ovlivňování biochemických a fyziologických mechanismů. Úroveň našich vědomostí v oblasti hodnocení zdravotních rizik nanomateriálů je zatím omezená a neodpovídá dynamice nano-materiálového vývoje a výroby. Hlavními komplikacemi jsou specifické vlastnosti nanomateriálů a variabilita jejich chování v prostředí a tkáních živých organismů, což snižuje validitu standardně používaných testů toxicity a akcentuje nutnost jejich optimalizace (modifikace) a vývoj testů nových. Z tohoto pohledu představují výsledky hodnocené DP přínos k rozvoji souvisejících technických a medicínských oborů.



UNIVERZITA KARLOVA

Lékařská fakulta v Hradci Králové

Obecná charakteristika práce (formální stránka)

Disertační práce (DP) je psána v českém jazyce s dobrou úrovní gramatiky (drobné chyby nijak nesnižují kvalitu práce). DP je členěna standardním způsobem na přehled o současném stavu problematiky, popis metodik, výsledky, diskusi, závěr, přehled literárních odkazů a na přílohy (seznam obrázků, seznam tabulek a obrázky, které z důvodů přehlednosti textu nejsou prezentovány přímo v textu). Teoretická část DP má 76 stránek, experimentální část (metodiky, výsledky, diskuse, závěry a přílohy) 73 stránek. Poměr jednotlivých částí práce považuji za vyvážený. Práce je logicky strukturována, výsledky jsou prezentovány v podobě tabulek (24) a úctyhodného množství obrázků (74). Použitá odborná literatura zahrnuje celkem 185 většinou recentních odkazů. Anotace v českém a anglickém jazyce (a rovněž tak zvolená klíčová slova) považuji za výstižné. Po stránce formální a jazykové je práce zcela vyhovující. Dovolím si poznámku, že svým rozsahem práce připomíná spíše práci habilitační.

Naplnění stanovených cílů práce (obsahová stránka)

Práce je standardně rozdělena na teoretickou a experimentální část. Kapitoly se týkají přípravy a charakterizace zlatých, stříbrných a měděných nanočástic, testování jejich antimikrobiálních účinků, testování stability nanočástic stříbra v tekutém médiu a přípravy a funkcionalizace zlatých nanočástic pro cílenou léčbu nádorů kostí. Cíle či hypotézy v práci explicitně uvedeny nejsou. Nicméně, pokud vyjdeme z dílčího zadání jednotlivých kapitol, práce tato zadání naplňuje a přináší velké množství nových informací.

Teoretická část DP je zaměřena na analýzu dostupných informací o sledovaných nanokovech, konkrétně o jejich syntézách, vlastnostech koloidů a charakterizacích. Dále jsou rozebírány jejich antimikrobiální vlastnosti a cílený transport zlatých nanočástic do osteosarkomových buněk.

Experimentální část práce popisuje přípravu a charakterizaci zlatých, stříbrných a měděných nanočástic. Byly vyvinuty originální syntetické postupy s použitím různých redukčních činidel. U připravených nanočástic byl měřen jejich hydrodynamický průměr a stabilita nanočástic byla ověřována měřením ζ potenciálu nanočástic. K charakterizaci připravených nanočástic bylo využito i mikroskopických technik (TEM, SEM, AFM) a XRD.

V další části práce byly u připravených nanočástic testovány jejich potenciální antimikrobiální účinky na kulturách bakterií *Staphylococcus aureus* a *Escherichia coli* a na kulturách kvasinek *Saccharomyces cerevisiae* a *Candida albicans*. Pro testování byly použity standardní i modifikované testy. Výsledky testování antimikrobiálních účinků však nebyly jednoznačné. Nutno doplnit, že ani v recentní odborné literatuře zatím nejsou k dispozici jednotná doporučení k testování antimikrobiálních vlastností nanomateriálů. V tomto procesu je přítomno několik kritických bodů, jejichž variabilita významně ovlivňuje výsledky testů. Je zřejmé, že chování nanočásticových koloidů v biologických systémech se odvíjí od intrinsických vlastností nanočástic samotných (například stability, povrchu, velikosti, porozity



UNIVERZITA KARLOVA

Lékařská fakulta v Hradci Králové

a funkcionalizace). Zjištění uvedená v DP poukazují na nutnost podrobné charakterizace testovaných materiálů a jejich stability v koloidu a na nutnost definování reprodukovatelných postupů testování kovových nanočástic. Hodnoty inhibičních koncentrací v literatuře tak představují pouze rámcové informace o daném nanomateriálu při konkrétních testovacích podmínkách a nemusí být přenositelné. Jak doktor Bureš správně uvádí, vhodným postupem k testování nanomateriálů by mohl být kombinatorický přístup, využívající více metod založených na různých mechanismech testování antibakteriálního účinku.

Další kapitoly v experimentální části práce byly věnovány stabilitě nanočástic stříbra v demineralizované vodě a v médiu 203 (kombinace hořečnatých, vápenatých a sodných solí) pro účely testování akutní toxicity pro akvatické živočichy. Experimenty ukazují na významný vliv iontové síly kapalného média na agregaci dispergovaných stříbrných nanočástic. Doktor Bureš uvádí, že rozdíl mezi iontovou silou použitého média a potenciálně znečištěnou, přirozeně se vyskytující vodou, je s velkou pravděpodobností kritickým parametrem testů vodní toxicity nanočástic a že smysluplných výsledků lze dosáhnout pouze v relevantním experimentálním systému, kde má optimalizace parametrů kultivačního média stejnou prioritu jako výběr vhodného biologického modelu.

Závěrečná část práce byla zaměřena na přípravu a funkcionalizaci zlatých nanočástic pro cílenou léčbu nádorů kostí, s cílem dosáhnout prodloužení jejich cirkulačního poločasu a zefektivnění případné léčby. Byly připraveny dva nanočásticové systémy s rozdílnými velikostmi kovových zlatých nanočástic, které byly následně stabilizovány. Pro zvýšení záchytu nanočástic buňkami byly stabilizované nanočástice dále funkcionalizovány signálními peptidy. Pro cílený transport do cytoplazmy pomocí signálního peptidu CPP (Cell Penetrating Peptide) a do buněčného jádra pomocí NLS (Nuclear Localisation Signal). Na osteosarkomových buněčných liniích 143B byl následně ověřován záchyt funkcionalizovaných i nefunkcionalizovaných nanočástic. Autor uvádí, že pravděpodobně nejvhodnějšími nanočásticemi pro jejich cílený transport do osteosarkomových buněk 143B by měly být zlaté nanočástice o velikosti 50 nm. Uplatňuje se u nich vyšší spontánní záchyt a po funkcionalizaci CPP se jejich schopnost penetrovat do buňky ještě zvyšuje. Tyto nanočástice, funkcionalizované kombinací CPP a NLS, jsou schopny pronikat až do jader buněk.

Závěrem lze konstatovat, že práce přináší nové výsledky a představuje přínos k rozvoji souvisejících technických a medicínských oborů. Kvalitu výsledků potvrzuje i jejich prezentace v článku v impaktovaném časopise (Neoplasma, IF 2.575), v němž je student prvním autorem.

Chyby a nedostatky

V hodnocené DP jsem nenalezl významné obsahové či formální chyby/nedostatky. Postrádám pouze explicitní vyjádření cílů (hypotéz) DP a jejich zhodnocení



UNIVERZITA KARLOVA
Lékařská fakulta
v Hradci Králové

Dotazy

1. Jaký je autorův názor na problematiku potenciální kontaminace povrchů testovaných nanočástic prakticky všudypřítomnými lipopolysacharidy (endotoxiny, LPS), ve smyslu možného ovlivňování výsledků testů cytotoxicity, genotoxicity a zejména imunotoxicity. Lze laboratorně tyto interference potlačovat či eliminovat?
2. Lze nanočástice a jejich aglomeráty, agregáty či aglomerované agregáty považovat za stejné chemické látky?

Závěr

Předložená doktorská disertační práce MUDr. Ing. Zdeňka Bureše splňuje podle mého názoru všechny požadavky uvedené v §47 vysokoškolského zákona č. 111/98 Sb. v platném znění.

Domnívám se, že student jednoznačně prokázal způsobilost k samostatné vědecké práci, a proto doporučuji předložit disertační práci k obhajobě

Prof. Ing. Zdeněk Fiala, CSc.
Ústav preventivního lékařství
Univerzita Karlova
Lékařská fakulta v Hradci Králové

V Hradci Králové 19.02.2025