

Oponentní posudek diplomové práce

Příjmení a jméno autora:

Bc. Kateřina Horešovská

Název práce:

Navázání biologicky aktivních látek na kryty ran z kyseliny hyaluronové

Jméno vedoucího práce:

Prof. Ing. Radim Hrdina, CSc

Datum odevzdání diplomové práce:

10. května 2019

Komentář k plnění cílů práce:

Tématem předložené práce byla tvorba krytů ran na bázi netkaných textilií tvořených staplovými mikrovláknky z hyaluronátu sodného, navázání vybraných biologicky aktivních látek na tyto kryty a testování antimikrobiálních efektů finálních prototypů krytů ran. K jednotlivým částem diplomové práce mám následující komentáře a připomínky.

Teoretická část: představuje poměrně rozsáhlé pojednání, ve kterém jsou shromážděny informace podstatné pro vypracování diplomové práce. V této části je zpracováno 158 literárních odkazů, což je na diplomovou práci vysoký počet. Ukazuje to na snahu diplomantky získat o studovaném problému co nejvíce znalostí v souvislostech. Tuto snahu vysoce hodnotím, avšak chtěl bych upozornit na pár nepřesnosti, nejasností či zbytečností, které se této části diplomové práce vyskytují. Poměrně hodně místa věnuje diplomantka rozdělení bandáží do různých skupin, podle jejich charakteru. Takto pojaté rozdělení přináší informace, které diplomantka nedokáže dále využít. Já bych se přikláněl k tomu, aby bandáže byly rozděleny nikoli podle charakteristik konstrukce, nýbrž podle jejich využití v různých fázích hojení, které jsou rozebírány o několik stránek dále. Navíc si myslím, že tak, jak je rozdělení zpracované není úplně v pořádku (např. alginátové bandáže jsou pojednány jako specifická skupina, přičemž jako další specifickou skupinu uvádí diplomantka kryty ran z polymerních látek. Alginát je rovněž polymer).

Podle mého soudu je vlastní proces hojení popsán dobře, zejména přihlédnu-li k tomu, že je to zpracované chemikem bez potřebného biologického vzdělání. Co mi však v této fázi chybí je úloha hyaluronanu v jednotlivých fázích hojení rány. Částečně je úloha hyaluronanu

rozebrána v části 1.3 věnované kyselině hyaluronové, avšak tam se vyskytuje řada chyb a nepřesností. Platí, že hyaluronan se zapojuje do druhé až čtvrté fáze, avšak jeho úloha je v různých fázích hojení ran rozdílná a závisí mimo jiné na jeho molekulové hmotnosti. Protože diplomantka pracovala s vlákny na bázi kyseliny hyaluronové, měly být tyto informace řádně uvedeny.

Část 1.3 je věnována kyselině hyaluronové. Rešerše je zpracována pečlivě a je poměrně rozsáhlá, zahrnuje jak chemii hyaluronanu, tak i část biologie hyaluronanu včetně farmakokinetiky. Až na výjimky (viz výše) je tato část poměrně dobře napsána.

Další části teoretického úvodu se věnují jednak tvorbě a zpracování vláken a biologicky aktivním látkám, pomocí kterých je možné modulovat hojení ran. K těmto částem bych měl pouze jednu připomínku, a to k použití stříbra v přípravcích na hojení ran. Stříbro, i když se v dnešní době ještě pořád hodně propaguje zejména nadnárodními výrobci bandáží, a to pro svůj vysoký bakteriostatický potenciál, je to látka poměrně silně toxická, která nevratně poškozuje buňky v kůži. Faktem je, že se kůže s těmito poškozeními dokáže vyrovnat, alespoň pokud není bandáž aplikována na chronické rány. Avšak stříbro se v kůži hromadí a není jasné, co se s ním po nějaké době stane. Navíc stříbro zatěžuje životní prostředí z odpadů po výrobě bandáží či po jejich použití.

Experimentální část a získané výsledky: K této části mám následující připomínky. Elektronový mikroskop (str. 54), na kterém byly získávány snímky vláken, byl vyroben brněnskou firmou Tescan, nikoli americkou firmou.

Dost dobře nerozumím kapitole 2.3, kde se mluví o acetylaci vláken pro kryty ran. Nesouhlasím s tvrzením, že za blíže nespecifikovaných podmínek („...okolních podmínkách...“) dochází k deacetylaci hyaluronanu. Hyaluronan lze deacetylovat (lze odstranit acetylovou skupinu), avšak vyžaduje to poměrně drastické podmínky, při které dochází k degradaci řetězců hyaluronanu na poměrně krátké fragmenty. Nesetkali jsme se s tím, že by ve vláknech hyaluronanu se ve větším množství nacházely deacetylované řetězce hyaluronanu. Přídavek acetanhydridu může vést k esterifikaci hydroxylových skupin za vzniku parciálně esterifikovaného hyaluronanu (podobný proces probíhá i u celulózy). Rovněž silně pochybuji o vlivu kyseliny octové uvolňované z derivátu hyaluronanu. Je třeba si uvědomit, že prostředí v ráně díky přítomnosti bílkovin poměrně hodně pufruje a k výrazné změně pH by množství kyseliny octové uvolněné z bandáže nestačilo (hyaluronan se v bandáži vyskytuje v miligramech až desítkách miligramů).

K části 2.6 mám připomínku týkající se kvantitativního stanovení aktivních látek (s výjimkou iontů stříbra a zinku), které je významné pro farmaceutické aplikace. Ověřili jste nějakým způsobem přesnost a spolehlivost použitých metod pro kvantifikaci CBD? Proč byl použit kurkumin, když se navazoval v jiném množství na vlákna hyaluronanu?

V části 2.7 mi není jasné, proč byla vybrána tato metoda sledování antimikrobiální aktivity, když je známo, že pokud se látka ve vodném prostředí agaru nerozpouští, nebude ani difundovat do okolí testovaného vzorku a bude tvořit nevýrazné nebo žádné inhibiční zóny. Rovněž se myslím, že by bylo vhodné zvolit standardní mikroorganismy používané pro testování antimikrobiálních aktivit doporučených lékopisem.

Otázky k obhajobě (kromě otázek uvedených výše):

Jakou úlohu hraje hyaluronan ve druhé až čtvrté fázi hojení ran?

Prosím o vysvětlení mechanismů reakcí, které jsou popsány v kapitole 2.3 a o průkaz o tom, že po acetylaci hyaluronanu nedochází ke vzniku esterů.

Jak se změnila mechanická vlastnost mikrovlákných vrstev s nanesenými aktivními látkami. Elektronoptické snímky ukazují, že se ztrácí vlákenná struktura po některých způsobech aplikace aktivních látek. Čím je to způsobeno?

Doporučení k obhajobě:

Diplomovou práci doporučuji k obhajobě

Hodnocení práce:

Práci hodnotím stupněm B

Příjmení a jméno oponenta:

Doc. RNDr. Vladimír Velebný, CSc.



V Dolní Dobrouči 28.5.2019