

Oponentský posudek disertační práce

Autor: Ing. Lenka Kovářová

Název práce: Vývoj materiálu na bázi hydrogelů kyseliny hyaluronové pro regeneraci myokardu

V předložené disertační práci se Ing. Lenka Kovářová zabývá výzkumem hydrogelů na bázi kyseliny hyaluronové využitelných pro podporu hojení poškozené srdeční tkáně. Svou práci disertantka vypracovala na Ústavu fyzikální a spotřební chemie, Fakulty chemické, Vysokého učení technického v Brně, pod vedením prof. Ing. Miloslava Pekaře, CSc.

Disertační práce obsahuje 145 stran textu, který je členěn tradičním způsobem. Na začátku práce jsou definovány cíle jako charakterizace hydrogelů na bázi kyseliny hyaluronové pro využití v tkáňovém inženýrství, především pro regeneraci srdeční tkáně po infarktu myokardu.

Následuje teoretická část a přehled současného stavu řešené problematiky, které jsou psány čtivě bez překlepů či gramatických chyb s adekvátními odkazy na literaturu. V této části jsou velmi podrobně popsány teoretické údaje o gelech, vztahy mezi strukturou, obecnými chemickými vlastnostmi a fyzikálními vlastnostmi. Dále jsou zmíněny obecně medicínské aplikace gelů. Následuje kapitola věnována kyselině hyaluronové a část o současných přístupech různých chemických variant přípravy hydrogelů z kyseliny hyaluronové pro použití v tkáňovém inženýrství. Další kapitola je zaměřená na principy regenerace srdečního svalu po infarktu myokardu a na současné léčebné strategie. Speciální kapitoly jsou věnovány preklinickým a klinickým studiím s tímto zaměřením. Celkově je literární rešerše pečlivě zpracovaná, doplněna mnoha přehlednými schématy a přináší komplexní vhled do studované problematiky. Je možné najít pouze minimum nedostatků. V některých částech úvodu není jasné, zda autorka pojednává obecně o hydrogelech, či specificky o hydrogelech na bázi kyseliny hyaluronové. Například schéma možných aplikací hydrogelu na Obr. 8. by bylo vhodné rozdělit na aplikace v medicíně a jiné průmyslové využití. V následující kapitole 3.2.4. Aplikace kyseliny hyaluronové by pro lepší přehlednost bylo vhodné uvést aplikace nativní kyseliny hyaluronové bez dodatečného síťování, na což by pak navázala informace o gelech na bázi hyaluronanu, které jsou nějakým způsobem síťovány. Z formálního hlediska není v textu konzistentně používána zkratka pro kyselinu hyaluronovou. Nepřesné informace jsou uvedeny i v kapitole 4.3. pojednávající o typech kmenových buněk, to ale může být spojeno i s významně odlišným použitím jednotlivých termínů různými autory v recentní literatuře. Nicméně pojem kmenová buňka je dostatečně specifický a nelze do něj zahrnout buněčné typy jako mononukleární buňky kostní dřeně, jak by z textu mohlo vyplývat.

V další části práce jsou podrobně popsány materiály použité v práci včetně podrobné charakterizace.

V části metody jsou rozebírány fyzikální metody, včetně podrobných teoretických informací doplněné řadou přehledných schémat. Ale některé informace např. v části Reologické parametry a metody a Stanovení vlastností v kompresi se překrývají s informací uvedenou v teoretickém úvodu. Celkově by teoretické informace v kapitole metody bylo vhodnější zahrnout do teoretického úvodu. Dále v některých částech se zachází příliš velkých detailů, například příprava navážek pro přípravu roztoků. Opět drobným formálním nedostatkem je nekonzistentní používání některých zkratk a příliš časté využití anglickanismů.

V části výsledky jsou prezentovány získané výsledky testování. Jsou popsány vlivy kombinace různých typů derivátů, různě substituovaných, jejich koncentrací, vzájemných koncentrací se síťovacími činidly, vliv teploty a dalších parametrů na rychlost gelace, viskozitu, elastický modul, bobtnavost, poréznost či velikost ok sítě a další fyzikální parametry vzniklých hydrogelů na bázi kyseliny hyaluronové. U vybraných materiálů je také testována cytotoxicita. Také byla testována adheze buněk k povrchu gelových materiálů na bázi tyraminovaného derivátu kyseliny hyaluronové jak s navázaným RGD peptidem tak s přidavkem fibrinogenu. Finálně je prezentována kombinace materiálů, kdy bylo docíleno optimálních vlastností hydrogelu z pohledu rychlosti gelace, mechanických a viskoelastických vlastností či bobtnání při současném přidavku optimálního množství buněk. Jsou prezentovány různé strategie zobrazení vyvíjených hydrogelů po aplikaci na svalovou tkáň. Dále je testována kompatibilita vybraného materiálu s aplikačními zařízeními zejména s pomocí tenkých jehel, směšovače a katetru či unikátního aplikačního zařízení SPREADS. Finálně je velmi krátce prezentována aplikovatelnost materiálu *in vivo* a testování terapeutického potenciálu materiálu v preklinické studii. Obecně jsou výsledky přehledně prezentovány ve velkém množství grafů. Jako závažnější nedostatek, lze spatřovat úplnou absenci použití statistického vyhodnocení získaných dat. Dále i v této kapitole dochází k opakování stejné informace, která se již v předchozích částech práce objevila.

V diskuzní části disertantka jednotlivé poznatky komentuje a shrnuje v kontextu terapeutického využití. V diskuzní části však zcela chybí jakákoliv diskuze s recentní literaturou zabývající se obdobnými tématy vývoje hydrogelů na bázi kyseliny hyaluronové pro tkáňové inženýrství.

V závěrečné části jsou v bodech shrnuty hlavní výsledky práce.

Celkově lze shrnout, že disertační práce se věnuje vysoce aktuálnímu tématu, přičemž z předložené disertační práce vyplývá, že všechny stanovené cíle byly splněny. Disertační práce přináší zcela nové výsledky, které přispívají k lepšímu pochopení o možnostech tvorby hydrogelů z derivátů kyseliny hyaluronové a jejich možném využití v regenerativní medicíně, konkrétně v regeneraci srdeční tkáně po ischemickém poškození.

Výsledky již byly publikovány v řadě článků ve velmi kvalitních časopisech s impakt faktorem. Lze tedy konstatovat, že disertační práce splňuje podmínky uvedené v § 47 odst. 4 zákona, že disertační práce obsahuje

původní a uveřejněné výsledky a že disertantka prokázala schopnost a připravenost k samostatné činnosti v oblasti výzkumu nebo vývoje.

Komentáře a dotazy k předložené práci:

1. V práci se hovoří o využití derivátu hyaluronanu s RGD peptidem. Jaká je biologická funkce tohoto peptidu, jak interakce RGD s buňkami funguje?
2. Z výsledků ze skenovacího elektronového mikroskopu vyplývá, že detekovaná velikost pórů neodpovídá experimentálně vypočítaným hodnotám. Jsou v současnosti jiné metody elektronové mikroskopie či jiné zobrazovací metody, které by bylo možné použít k zobrazení skutečné velikosti pórů v gelu?
3. Je známo, že fluorescein je citlivý k degradaci oxidací. V případě použití hydroxyfenyl (tyraminovaného) derivátu HA značeného fluoresceinem, byl testován vliv přídavku peroxidu vodíku a křenové peroxidázy na fluorescenci fluoresceinu?
4. Jaké statistické testy by bylo vhodné použít pro hodnocení většiny získaných dat?
5. Jako zásadní nedostatek práce je chybějící diskuze s recentní literaturou, kde by získané výsledky byly porovnány s výsledky jiných autorů studujícími využití síťovaných hydrogelů na bázi kyseliny hyaluronové pro tkáňové inženýrství. Může autorka vybrat alespoň několik takových prací a své výsledky s nimi diskutovat?
6. V práci je prezentováno velké množství metod a výsledků. Celá řada z nich byla publikována ve vysoce kvalitních impaktovaných časopisech, kde je disertantka spoluautorkou avšak ne prvoautorkou. Bylo by tedy vhodné zahrnout informaci o podílu autorky na dosažení jednotlivých cílů a publikovaných prací.

Závěrem konstatuji, že studentka prokázala tvůrčí schopnosti v dané oblasti výzkumu a že předkládaná práce splňuje požadavky standardně kladené na disertační práci v daném oboru. Dále doporučuji, aby předložená disertační práce byla postoupena k obhajobě a po úspěšné obhajobě byl uchazečce udělen titul Ph.D.

V Brně 28. 8. 2020

doc. Mgr. Lukáš Kubala, Ph.D.