

Posudek vedoucího diplomové práce

Název: **Interakce nanočástic oxidů železa s doxorubicinem**

Autor: Bc. Jaroslav Kašpar

Obor: Nanotechnologie

Vedoucí práce: doc. RNDr. Roman Kubínek, CSc.

Aplikace magnetických nanočástic v medicíně patří mezi nejsledovanější aplikace v oblasti nanotechnologií. Možnost jejich využití jako nosičů léků, kontrastních činidel v MRI a zejména při protinádorové léčbě, patří mezi nejzajímavější. Bc. Jaroslav Kašpar si pro svoje téma zvolil možnost využití při protinádorové léčbě, což znamená, že jeho téma je tedy vysoce aktuální.

Na základě negativního posudku oponentky diplomové práce v červnu 2014, upravil bc. Jaroslav Kašpar svou práci, kdy nejen reagoval na připomínky, ale zejména rozpracoval kapitulu zaměřenou na testování cytotoxicity na linii nádorových buněk.

Náročnost zvoleného tématu spočívá v tom, že je třeba pochopit a zvládnout principy experimentálních metod nanotechnologií v této oblasti, se kterými se diplomant během řešení diplomové práce setkal – Mössbauerovská spektroskopie, transmisní elektronová mikroskopie, rentgenová difrakce, spektroskopie UV/Vis a IČ, termogravimetrická analýza a diferenční skenovací kalorimetrie, dynamický rozptyl světla, případně další. Diplomant je stručně popisuje v teoretické části, v experimentální potom uvádí naměřené výsledky experimentů, kterých se zúčastnil a interpretoval je společně s odborníky v těchto oblastech.

Další náročnou oblastí je pochopení chemické struktury a fyzikálních a chemických vlastností nanostrukturovaných forem oxidů železa, zde především magnetitu a maghemitu v jejich podobě superparamagnetických nanočástic. Jako absolventovi Fakulty zdravotních věd, byly bližší i medicínské pojmy, se kterými pracoval, aby mohl dosáhnout požadovaného efektu. Zejména šlo o pochopení mechanismu transportu funkcionalizovaných nanočástic přes buněčnou membránu (endocytóza), cílené distribuce nanočástic s vázaným doxorubicinem, případně mechanismu hypertermického efektu.

Všechny uvedené metody a mechanismy popisuje diplomant v teoretické části stručně a většinou výstižně, s citováním literatury, ze které čerpal. Použitá literatura zahrnuje dostatek zdrojů a je aktuální.

Cíle práce jsou v úvodu práce vyjmenovány, bylo by však vhodné zmínit u každého cíle přínos diplomanta. Fyzikálně a chemická charakterizace byla prováděna na specializovaných pracovištích RCPTM, kde je špičková technika a diplomant měl možnost být přítomen experimentům a konzultovat měření se specialisty. Imobilizace doxorubicinu na

magnetický nosič byla realizována ve skupině binanotechnologií v RCPTM a ve spolupráci s LF UP na ústavu lékařské biofyziky diplomant provedl testování cytotoxicity prostřednictvím MTT testu na nádorových buňkách.

Hlavním cílem, jak nakonec vyplývá z názvu práce, je samotná interakce nanočástic s doxorubicinem. Diplomant popisuje vlastnosti doxorubicinu a spektroskopicky stanovuje kalibrační křivku, která byla důležitá pro výpočet koncentrace imobilizovaného doxorubicinu. Tato fáze přípravy experimentu byla důležitá pro stanovení množství vyvázaného doxorubicinu na funkcionalizovaný povrch magnetické nanočástice. Výsledky, popisované v této části 8.7., jsou významné. Kapitola 8.8., je zcela nově zpracovaná. Testy cytotoxicity byly prováděny na buněčných liniích NIH3T3 (myší fibroblasty) a MCF7 (nádorové buňky karcinomu prsu). Tato měření, z důvodu časové i finanční náročnosti, nebyly opakovány. Lze tedy vycházet pouze z dílčích výsledků, a to je vyšší citlivost buněk MCF7 na chemoterapeutikum. Problém zde dělala i velká agregace nanočástic. Pokud by diplomant měl nadále pokračovat v podobných experimentech, měl by se zaměřit na zlepšení stabilizace nanočástic i zamezení agregace.

Jednou z metod, použitých pro popis interakce komplexu doxorubicin-nanočástice, je i fluorescence. Není o ní ale zmínka v popisu experimentálních metod. Diplomant by mohl její podstatu v tomto konkrétním případě objasnit u obhajoby (modrá fluorescence). Zejména se zmínkou, co zde vlastně „svítí“ (např. modré pozadí po celé ploše na obr. 45).

Mám stále stejné připomínky k formálnímu zpracování diplomové práce. Vcelku neobvykle jsou v textu popisovány obrázky. Zcela originální je odkaz na obr. XXX (na straně 57). Očekával bych jejich popis v textu a pod obrázkem stručný popis. Uvedení zdroje mohlo být v poznámce pod čarou, čímž by se zajistil lepší tok textu. Typografická úprava textu oproti předchozím připomínkám nebyla provedena a tak zůstává na stránkách příliš mnoho prázdných míst. Některé obrázky jsou zbytečně velké, např. chemické vzorce na obr. 8, 9, 10 a 11 a stejně tak grafy, tabulky a fotografie jsou umísťovány na stránkách jednotlivě. Snížení počtu stránek o 1/3, které tak odhaduji, by nebylo problémem.

Diplomovou práci doporučuji k obhajobě a hodnotím ji „C“