

## Posudek vedoucího na bakalářskou práci

**Autor práce: Petr Skopal**

**Název práce: Lipidové vezikuly jako nosiče látek s řízeným uvolňováním s pomocí vysokofrekvenčního ultrazvuku**

**Vedoucí práce: MUDr. Mgr. Robert Bajgar, Ph.D.**

Poř. číslo	Kritérium hodnocení	Body (0-5)
1	pracovní aktivita	5
2	zájem o řešenou problematiku (četnost diskusí s vedoucím, znalost relevantní literatury)	5
3	manuální zručnost	5
4	pečlivost a spolehlivost	5
5	vyhodnocování a interpretace experimentálních výsledků	3
6	samostatnost při sepisování práce	5
<b>Celkem bodů</b>		<b>28</b>

Max.  
30

### Komentář k práci, připomínky a dotazy

Bakalářská práce studenta Petra Skopala o celkovém počtu 92 stran se v teoretické části velmi podrobně, se zřetel na typ kvalifikační práce, zabývá problematikou různých systémů pro řízenou distribuci léčiv. Významná část je pak věnována lipidovým vezikulám. Seznam použité literatury obsahuje 151 citací, z nichž třetina je mladších 5 let. Svým obsahem a rozsahem by již teoretická část naplnila požadavky běžně kladených na bakalářské práce čistě rešeršního charakteru. Experimentální část je pak prezentována na 27 stranách, kde student hodnotí účinky nízkofrekvenčního a vysokofrekvenčního ultrazvuku na uvolnění nízkomolekulárních látek z různých liposomálních modelů. K samotnému hodnocení využívá 2 rozdílných luminiscenčních metod, tradiční detekční metodu založenou na koncentračním zhášení fluoroforu (nebo přítomnosti fluorescenčního zhášeče) a také chemiluminiscenci s použitím luciferázy pro kvantifikaci ATP.

Cílem práce bylo navrzení metodiky experimentálního měření pro uvolňování nízkomolekulárních látek z liposomů pomocí vysokofrekvenčního ultrazvuku *in vitro*; ověření experimentálně navržené metodiky; a provedení statistického vyhodnocení měření s následnou diskusí získaných výsledků. Dosažené výsledky poukazují, že obě použité metodiky jsou vhodné pro studium uvolňování látek z lipidových vezikul *in vitro*. Dalším přínosem bylo zjištění, že i použití vysokofrekvenčního ultrazvuku vede ke zvýšené propustnosti liposomální membrány a že propustnost je významně ovlivněna tranzitní teplotou použitých lipidů a přítomností jiných strukturních látek biologických membrán jako je cholesterol.

Po formální stránce mám k práci několik připomínek, které však významně nesnižují její kvalitu:

1. Pokud je práce psána v českém jazyce, pak by bylo vhodné i popisy u převzatých obrázků přeložit do českého jazyka.
2. V práci je zmíněno, že modulace intenzity ultrazvukového pole byla dosažena pomocí fokusace nebo pomocí kovového odražeče. Bližší popis těchto zařízení však v práci chybí, stejně tak teoretický výpočet intenzit ultrazvukového vlnění při použití těchto zařízení.

3. Na straně 37 je zřejmě překlep, neboť jednotkou intenzity je  $W/m^2$ .
4. Na straně 56 je uveden vzorec pro procentuální zhodnocení uvolnění kalceinu, avšak jednotlivé proměnné ve vzorci nejsou vysvětleny.
5. Nepřesné vysvětlení nebo chybějící český ekvivalent některých zkratk v seznamu zkratk jako ACMF, CARPA, CLR, CRP, HER2, HIFU, ...

Dále mám k práci tyto následující dotazy:

1. Na straně 10 se zmiňujete, že „unilamelární vezikuly mají sníženou enkapsulační kapacitu, tedy takzvaný packing parametr PP“. Na základě čeho tyto 2 veličiny ztotožňujete? Například inverzní micely mají  $PP > 1$ , ale jejich enkapsulační kapacita je zcela jistě menší než u LUV s PP v rozmezí hodnot 0,5-1.
2. Na straně 18 věnované popisu glycerofosfolipidů píšete „*Na zbytek kyseliny fosforečné (respektive kyslík) se může navázat jedna či dvě MK.*“ Můžete, prosím, uvést nějaký konkrétní příklad takového lipidu?
3. Změny intenzit luminiscence hodnotíte v procentech. Na straně 57 uvádíte, že se jedná o bezprostřední změnu. Co je míněno bezprostřední změnou? Dále zde uvádíte, že změna signálu o 15,1 % je nevalná. Na základě čeho tak usuzujete, respektive, jakou změnu signálu lze považovat za významnou?
4. Na změny v intenzitách luminiscence navozených účinky ultrazvuku aplikujete regresní analýzu a stanovujete korelační koeficient R. To znamená, že předpokládáte lineární závislost změny luminiscence v čase. Počáteční odezva po přidavku luciferázy však vykazuje silně nelineární závislost luminiscence na přítomnosti reaktantů. Druhým faktorem určujícím změnu luminiscence pak bude časová závislost samotného uvolňování ATP z liposomů. Můžete, prosím, zdůvodnit použití regresní analýzy a stanovení korelačního koeficientu R při Vašem hodnocení?
5. Na straně 59 píšete, že v případě HFUS došlo k významnějšímu uvolnění, které bylo spíše zapříčiněno termickým efektem a nikoliv vlivem kavitace. Na základě čeho tak usuzujete? Naměřené hodnoty ukazují, že k nejvyššímu nárůstu došlo v prvních cca 15 sekundách. Můžete odhadnout, o kolik stupňů se zvýšila teplota měřené suspenze během těchto prvních 15 sekund?
6. Na straně 64 píšete „*Nejjednodušší postup by samozřejmě zahrnoval použití LFUS, neboť sonosenzitivita liposomů nejlépe odpovídá frekvencím s korespondující vlnovou délkou pohybující se řádově v oblasti rozměrů vezikul.*“ Můžete tedy spočítat, jaká by měla být frekvence ultrazvuku, která by vykazovala nejlepší sonosenzitivitu liposomů o velikosti cca 200 nm?
7. Grafy na obrázcích 27-29 ukazují časové změny fluorescenčního signálu při uvolňování kalceinu z liposomů. Na straně 74 je uvedeno, že ve všech případech došlo k relativně zanedbatelné odezvě vůči působení US, přičemž procentuální uvolnění kalceinu bylo 7,2 %; 7,5 % nebo 4 %. Můžete, prosím, objasnit, jak byly určeny tyto hodnoty, neboť odezva na grafech 27 a 28 se jeví být dosti výrazná.

**Závěr: práci doporučuji / nedoporučuji k obhajobě.**

V Olomouci dne 22.5.2024

Podpis:

Hodnocení  
 A – 26-30  
 B – 21-25  
 C – 16-20  
 D – 11-15  
 E – 6-10  
 F – 5 a méně