

OPONENTSKÝ POSUDEK DISERTAČNÍ PRÁCE

Studium látek ovlivňujících propustnost kožní bariéry

Zpracoval: doc. RNDr. Pavel Doležal, CSc.
Univerzita Karlova v Praze
Farmaceutická fakulta v Hradci Králové
Katedra farmaceutické technologie

Disertantka: Mgr. Anna Nováčková
Školitel: doc. Mgr. Jarmila Zbytovská, Dr. rer. nat.
Vědní obor: Farmaceutická technologie

Úvod a formální záležitosti

V souladu s novějšími zvyklostmi je disertační spis členěn na stěžejní část zahrnující náplň tří zásadních impaktovaných publikací, na kterých se disertantka v průběhu řešení tématu své práce během studia podílela, na jedné z nich (s IF 7,143) jako první autorka. Kopie těchto prací tvoří závěrečnou součást **Příloh**, kde je také **Seznam odborných publikací** s jejím spoluautorstvím, které byly při zpracování předloženého rukopisu využity. Tímto uspořádáním je po formální i věcné stránce plně vyhověno také povinnému úvodnímu prohlášení o původním autorském díle.

Oceňuji, že zmíněná stěžejní část disertačního spisu je psána dobrou češtinou, s minimem nekorigovaných drobných nepřesností a s minimem termínů z oblasti technického slangu. Na jednu výjimku z oblasti AFM poukáži níže. V případě, že mateřským jazykem autora disertace je čeština, považuji schopnost samostatně se v rámci odborného textu vyjadřovat v rodném jazyce za důležitou součást doktorandského vzdělání. V impaktovaných pracích vícečetných autorských kolektivů psaných vesměs v angličtině a mnohonásobně korigovaných i v rámci časopiseckých oponentur se tato schopnost neprokáže.

Po přehledném **Obsahu** práce je náplň disertace shrnuta v odstavcích **Abstrakt/Abstract**, které mohly být formulovány stručněji, a tak i výstižněji. Navazující **Seznam zkratk** je pečlivý a bezchybný.

Úvod a cíle práce jsou srozumitelně vyjádřeny na stranách 17 až 18, dílčí úkoly obsahují jejich zdůvodnění a otázky, na které má disertace odpovědět. Jejich očíslování by prospělo jejich lepšímu sladění se **Závěry**, jak dobře ukazuje výše zmíněný **Obsah**.

Teoretický úvod na 20 stranách poskytuje stručný vhled do problematiky struktury a funkce kožní bariéry a ovlivňování její propustnosti, včetně patofyziologických aspektů, dále výstižně shrnuje rovněž modely kožní bariéry a metody jejího zkoumání. Celá kapitola je obohacena 13 perfektně zpracovanými obrázky a průběžně odkazuje na 174 citací.

Experimentální část nejprve velmi stručně uvádí přehled použitých materiálů, chemikálií a přístrojů, příslušné detaily jsou uvedeny v příložených publikacích. Celá tato část je přehledně členěna podle dílčích úkolů, metodik a cílů. Je vybavena celkem 41 obrázky a 4 tabulkami prezentujícími naměřená data a dosahované výsledky z publikací i výsledky další. K jednotlivým dílčím částem jsou vždy připojeny odstavce **Výsledky a diskuse**, využity jsou další odkazy na literaturu.

Závěry jsou formulovány v návaznosti na zadání, což umožňuje kontrolu a porovnání s Cíly práce, **Seznam literatury** obnáší celkem 227 pečlivě vybraných odkazů.

Řešená problematika, metody práce, výsledky

Práce představuje širokou paletou otázek spojených s výzkumem kožní bariéry. Jejich aktuálnost a současně kvalitu zpracování experimentů a interpretace výsledků dostatečně dokládá spoluautorství disertantky na celkem pěti impaktovaných publikacích. Zahrnuje velkou řadu experimentálně náročných metodik.

Některé z nich, jmenovitě využití monovrstevného modelu při studiu interakcí enzymu β -GlcCer-asy a PAMAM s kožními lipidy jsou zcela nové a budou ještě optimalizovány.

Za revoluční považují pokus o navození defektu enzymu PNPLA1 k simulaci onemocnění ARCI, přestože jeho optimalizace bude vyžadovat další práci.

Důležitost interakcí mezi keratinocyty a fibroblasty je sice v principu očekávatelná, její detailní experimentální studium i za pomoci RHS modelů je ovšem stále obtížné a přináší zajímavé poznatky. K takovým patří i skutečnost, že nebyl prokázán vliv přítomnosti fibroblastů na syntézu kožních ceramidů.

Využití kožních štěpů v *ex vivo* experimentech umožnilo otestovat a kvantifikovat vliv nové původní podskupiny potenciálních enhancerů na bázi terpenů a nových polyamidoamino dendrimerů.

Zaznamenání a doložení přímé role mírně kyselého prostředí při uspořádání lipidů ve *stratum corneum* kůže je zásadní a v tomto ohledu vybízí k dalšímu zkoumání.

Přestože disertantka všechny experimenty aktivně neprováděla, jak sama v práci uvádí při výčtu svých spolupracovníků a jejich vkladu do celkové výsledkové mozaiky, musela se

s popisovanými použitými metodikami a jejich interpretací důkladně seznámit, aby je mohla v logické formě v předloženém spisu prezentovat. To se jí na výborné úrovni podařilo.

Diskusní připomínky a dotazy

1. Ke korektorským detailům patří upozornění na psaní mezer v textu mezi pořadovými čísly referencí a předcházejícím interpunkčním znaménkem nebo předcházejícím číslem reference v horním indexu. Psaní bez mezer je správně.
Psaní malých a velkých písmen v anglicky psaných názvech prací uvedených v seznamu literatury by mělo být v rámci celého seznamu ustálené (srovnej např. citaci 41 a 42). Interpunkční znaménka u jmen a příjmení českých autorů by mělo být sjednoceno srovnej např. citaci 129 a 153. Citace 131 a 135 odkazují na totéž.
2. Z jazykových připomínek zmiňuji pouze problematický termín kantilevr, který by zasloužil lepší překlad do češtiny z anglického cantilever. Nabízejí se například termíny sonda, přenoska, nebo hůře alespoň kantilever (se správným hláskováním).
K drobnému upřesnění nabádají další poznámky:
3. V teoretické části není zmíněna role kožních adnex, mohla by být komentována také role kožního mikrobiomu.
4. Na str. 37, odst. 1 teoretické části je tvrzení: AFM umožňuje pozorovat uspořádání lipidů ve vysokém řádu desítek nm. To podle mého názoru nelze považovat za vysoké rozlišení. Oproti tomu je na str. 50, odst. 2 (pod obr. 15) konstatováno, že dvě hlavní domény vykazují rozdíl 1,1 nm. Takové rozlišení už je vysoké. Není v těchto větech rozpor?
5. Na str. 37 tamtéž je konstatováno, že ... kontaktní mód, kdy hrot na kantilevru skenuje povrch Znamená to, že při jiném módu se neskenuje?
6. Ke str. 37 připojuji dotaz: Je možné Linomatem nanášet kromě roztoků a suspenzí také emulze?
7. Ke str. 39, odst. 2: Je variabilita kůže u *ex vivo* modelů vždy nevýhodou?
8. Ke str. 39, odst. 2: odst. 3, ř. 7 odspodu: Tvrzení, že „spodní (akceptorová) část simuluje vnitřní prostředí organismu“ ... je dost nepřesné.
9. V textu se několikrát opakuje tvrzení, že pH 7,4 je neutrální. Bylo by dobré toto konstatování upřesnit.
10. Při komentáři ke studovaným vlivům pH vlastnosti kožní bariéry postrádám zmínku o tom, že se nejedná o vlivy koncentrace vodíkových iontů, jak by se nabízelo z definice hodnot pH, ale o složitější interakce různě hydratovaných iontů z použitých fosforečnanových pufrů (apod.) s bariérovými lipidy.

Závěr

Mgr. Anna Nováčková vypracovala velmi kvalitní kvalifikační práci vyznačující se širokým metodickým záběrem, velkým kvantem získaných výsledků a jejich důmyslnou interpretací, takže obstály i v náročných oponentních řízeních pro impaktované zahraniční časopisy. Podmínky kladené na disertační práce na Univerzitě Karlově tak jednoznačně splnila.

Na základě výše uvedeného doporučuji předloženou práci Mgr. Anny Nováčkové k obhajobě s návrhem na udělení titulu Ph.D.

.....
doc. RNDr. Pavel Doležal, CSc.

V Hradci Králové dne 14. 6. 2021