

OPONENTSKÝ POSUDEK NA BAKALÁŘSKOU DIPLOMOVOU PRÁCI

Název práce: **Terapie nádorových onemocnění založená na ukotvení laminarinu na povrch nádorových buněk**

Autor práce: **Marie Auerová**

Oponent: Ing. Eva Pokorná, CSc.

Předložená práce se zabývá testováním léčby nádorového onemocnění (melanomu B16 u myši) pomocí imunoterapie. Práce se skládá ze tří dílčích experimentů, kdy v každém z nich je sledováno působení β glukanu laminarinu s nízkou molekulární hmotností, který buď je nebo není ukotvený na povrch nádorové buňky pomocí kotvící molekuly BAM. Dále bylo sledováno synergické působení tohoto komplexu s LPS nebo LTA nebo s oběma látkami současně. Cílem bylo zjistit, která z těchto kombinací potenciálně nejlépe inhibuje růst nádorových buněk. Z vyhodnocovaných kritérií byl sledován růst nádoru v čase, teplota v nádoru a mimo něj na těle, metastatický potenciál a doba přežívání. Některé kombinace se ukázaly jako potenciálně velmi nadějně, i když se zatím jednalo jen o „první indicie“. Pro splnění vkládaných nadějí bude nezbytný další dlouhodobý seriózní výzkum.

Bakalářská práce má klasické členění odpovídající vědecké práci. Ve všech bodech se mi zdá poměrně stručná, pro srozumitelnost čtenáře by neškodilo některé kapitoly rozšířit o vysvětlení, proč a jak byl který experiment zařazen a tím dosáhnout lepší provázanosti a snažšího pochopení. Přehled použité literatury v úvodní části i v diskuzi je dostatečně obsáhlý a dostatečně aktuální.

K práci mám následující připomínky:

1. Obecně se častěji v odborné literatuře používá pojem onkologické nebo nádorové onemocnění než rakovina.
2. V části 1.1.3.2.c) – epitelové (nikoli epitelovové) – což chápu jako překlep.
3. V části 1.1.4.e) – dědičnost – tento odstavec není podložený literaturou (což by nevedlo), ale myslím, že tvrzení, že faktor dědičnosti se v současné době zdá být méně důležitým, není zcela pravdivé. Právě v této oblasti probíhá rozsáhlá výzkumná činnost. Za posledních 10 let se tento výzkum posunul výrazně vpřed (viz např. zavedení rutinního vyšetřování BrCa I a II genových mutací při standardní léčbě nádoru prsu u žen a mnoho dalších prací).
4. V části Úvod zcela chybí jakákoli zmínka o později v práci běžně používaných látkách LPS, LTA a kotvící molekule BAM. Nikde v celé práci nejsou zkratky LPS a LPT zavedeny a BAM pouze v materiálech popsána jako Biocompatible Anchor for Cell Membrane. Myslím si, že se nejedná o zcela běžně užívané látky a že jejich přiblížení a vysvětlení zkratkou čtenáři by mělo v Úvodu být zařazeno. Rovněž by mělo být vysvětleno, proč právě s LPS a LTA je hledána synergie pro laminarin.
5. Obecně k výsledkům: chybí mi u všech tří studií tabulky skutečných naměřených číselných hodnot, protože z grafů můžeme vidět jen průměrné hodnoty a směrodatné odchylky, ale mnohdy jsou jednotlivé naměřené hodnoty pro představu čtenáře velmi

- zajímavé (zvláště, když se jedná o malou skupinu 5 – 6 zvířat, např. experiment č. 2, Obr. 9 – obrovské směrodatné odchylky).
6. V části 3.1.1. – chemikálie – jich několik chybí, asi byly považovány za běžně užívané (např. trypsin, EDTA v PBS, trypanová modř atd..).
 7. Obr. 8, 10 a 14 – v jejich popisu by měla být pro lepší možnost posouzení situace uvedena fyziologická hodnota tělesné teploty myši, protože ne každý čtenář jí zná a vzhledem k ní by se měly výsledky vztahovat.
 8. Kapitola 4.2. Obr. 11 a 12 – sledování vlivu terapie na výskyt metastáz – považuji za velmi důležitý a vypovídající parametr, který by se měl sledovat při vyhodnocování vhodnosti výběru té které kombinace imunoterapie. Ale – skupiny jsou statisticky velmi malé, proto může dojít k tomu, že když 2 myši ze 6 nemají metastázy, zdá se, že se jedná o poměrně významné snížení nebo tam, kde 50% myši nemá metastázy, jedná se vlastně o tři myši, které ale mají v průměru každá 11 metastáz, což je hodně. Zdá se mi, že vyhodnotit vliv kombinované terapie na metastazování z takto malého souboru a jen z grafického vyjádření průměrných hodnot, je velmi obtížné. Zhodnocení metastatického potenciálu chybí v kapitole Závěr a mělo by tam být.
 9. Ve výsledcích chybí zhodnocení jednotlivých myši, které by, myslím, nejlépe ukázalo na vhodnost kombinace terapie. Myslím tím např.:

Myš č. 1:	Velikost nádoru	Počet meta	Přežití
	x [mm ³]	y	z [dní]

 Tyto výsledky by čtenáři umožnily lépe zjistit, jestli např. myš, která má v závěru jen malý nádor oproti kontrolní myši, je současně bez metastáz nebo déle přežila než daná kontrolní myš. Zprůměrované výsledky toto vůbec neumožňují.
 10. Kapitola 4.3. Obr. 15 – zde se mi nepodařilo z dané grafiky rozlišit, jak dlouho vlastně myši v dané skupině přežily. Barvy se (zvláště v závěru experimentu) překrývají a není mi jasné, kudy která křivka grafu vede.

Zvláštní pochvala za:

1. Velmi dobře nastudovaná a dobře pochopená imunologická tematika, která není jednoduchá.
2. Čeština téměř úplně bez chyb (i stavba vět a slovosled), což vůbec nebývá samozřejmostí.
3. Velmi dobře sepsaný Seznam použité literatury.

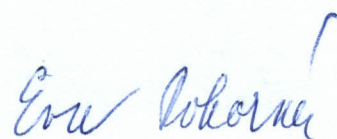
K práci mám následující otázky:

1. Zkoušeli jste nebo chystáte se zkoušet synergické působení ukotveného laminarinu nikoli současně s LPS a LTA, ale v časové posloupnosti (např. nejprve s LPS a poté s LTA)?
2. Chystáte se sledovat vliv této terapie i u jiných typů nádorů (např. karcinomů) nebo u jiných živočišných druhů?
3. Bylo by podle Vašeho názoru vhodné použít tuto metodiku terapie u již více pokročilého (např. generalizovaného) nádorového onemocnění??
4. Proč nebyly použity nějaké další metodiky, kterými by bylo možné lépe posoudit ji rozdílů (např. histologické vyšetření metastáz) nebo průběh odpovědi imunitního systému na léčbu (např. průběžné vyšetřování periferní krve pomocí metody průtokové cytometrie), nebo nějaké jiné další postupy, které by proces inhibice růstu nádorů ještě lépe analyzovaly?

Závěr:

I přes výše uvedené drobné připomínky jsem přesvědčena, že předložená práce je kvalitní a velmi zajímavá a splňuje veškeré požadavky kladené na bakalářskou práci. Autorka prokázala, že je schopná zpracovat zadanou problematiku v teoretické i praktické rovině. Proto jednoznačně doporučuji, aby předložená práce byla přijata k obhajobě.

V Praze dne 23. 5. 2012



Ing. Eva Pokorná, CSc.