

## Oponentní posudek na bakalářskou práci Julie Fáberové: Ověření možnosti terapie nádorových onemocnění pomocí bakterií *Stenotrophomonas maltophilia*

Bakterie jako potenciální protinádorová terapeutika jsou v současné době předmětem intenzivního výzkumu. Tato idea se zrodila již na přelomu 19. a 20. století, kdy bylo pozorováno, že pacienti s gangrénou či erysipem se spontánně uzdravili z nádorových onemocnění. Dobře dokumentovaný případ byl popsán v roce 1920, kdy Dr. William Coley zaznamenal případ pacienta s neoperovatelným maligním sarkomem na krku, který se zcela uzdravil poté, co prodělal dvě epizody erysipelu. Zejména anaerobní druhy (*Clostridium* sp., *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* sp.) se ukázaly být velmi vhodné k léčbě nádorových onemocnění, neboť jejich výskyt je poměrně dobře lokalizován na nekrotizující ložiska uvnitř nádoru. Práce Julie Fáberové je založena na odlišném přístupu k využití bakterií v protinádorové léčbě. K experimentální terapii melanomu u laboratorní myši byla použita bakterie *Stenotrophomonas maltophilia*, která se oproti většině známých bakterií liší svým kladným povrchovým nábojem. Autorka práce proto předpokládala, že takto nabitě bakterie se budou vyznačovat vyšší přilnavostí k nádorovým buňkám, které obecně vykazují záporný náboj na vnějším povrchu své buněčné membrány. Z tohoto pohledu se tedy práce Julie Fáberové zabírá velmi zajímavou a aktuální problematikou. Hned v úvodu mohu konstatovat, že se podařilo při řešení bakalářské práce dosáhnout některých zajímavých výsledků, které by snad po doplnění dalších klíčových experimentů mohly být základem publikace ve vědeckém časopise.

K předložené práci mám však několik zásadních kritických připomínek

1. Domnívám se, že design experimentů byl zvolen velmi nevhodně. Má-li se práce zabírat studiem vlivu bakterie *S. maltophilia* na nádorové bujení, jak je v názvu i cílech práce deklarováno, nelze opominout kontrolní experimenty s LPS a dalšími bakteriálními patogenními a nepatogenními druhy. Ze získaných výsledků nelze vůbec odvodit, zda pozorovaný efekt je výsledkem použití právě konkrétního bakteriálního druhu, či zda se jedná jen o nespecifickou záležitost. Stěžejní hypotéza, zda bakterie nesoucí kladný povrchový náboj bude vykazovat lepší protinádorové účinky oproti jiným bakteriím záporně nabitým, nebyla vůbec testována. Namísto toho byl v práci velký prostor věnován testování kombinací bakterie s různými látkami, což ale nemá v případě absence provedení základních experimentů a ověření stěžejních hypotéz příliš smysl.
2. Za velmi nevhodné pokládám číslování experimentů jako Pokus 1, 2 a 3 jak v metodice, tak ve výsledkové části. Tento nešvar se začal bohužel v poslední době v bakalářských a diplomových pracích na naší fakultě objevovat stále častěji. Bakalářská nebo diplomová práce nemá být přepisem laboratorního deníku. Místo toho má výsledky sumarizovat, analyzovat a diskutovat. Je vhodné, aby diplomové práce na naší fakultě představovaly jakousi rozšířenou formu odborné publikace a tudíž by měly sledovat i styl a způsob práce s výsledky, jaký je v odborné literatuře ustálen.
3. Seznam literatury obsahuje úctyhodný výčet literárních pramenů. Přesto se ale domnívám, že se autorka s literaturou nenaučila správně pracovat. Diskuse je v tomto ohledu nevyhovující. Postrádám důkladnou diskusi srovnávající vlastní výsledky s údaji v literatuře. Po krátkém hledání v databázi PubMed jsem našel stovky prací, které se zabývají podobnou problematikou.

4. Podobně úvod práce možná až příliš rozvláčně pojednává o obecných záležitostech. Domnívám se, že by bylo mnohem lepší úvod práce více zacílit na studovanou problematiku (tj. využití bakterií v experimentální protinádorové léčbě) a provést důkladnou literární rešerši.

Za méně závažné nedostatky práce pokládám:

1. Oskenované obrázky a tabulky nelze bez svolení nositele autorských práv v práci používat. Případný souhlas s použitím materiálu by měl být v práci uveden. Navíc obrázek č. 1 a tabulka č. 1. má po skenování špatnou kvalitu.
2. V práci se vyskytuje velké množství zkratk, které nejsou vůbec vysvětleny. Jiné zkratky jsou v textu zavedeny, ale dále již nejsou používány. Postrádám seznam zkratk v práci. Jakmile se začne v textu užívat zkrácené podoby rodového jména, měla by být tato zkrácená forma důsledně dodržována až do konce textu. Naopak nelze také užít zkratky rodového jména, aniž by bylo celé znění uvedeno v předchozím textu.
3. Některé pasáže v části materiál a metody připomínají spíše kuchařské recepty či slohovou práci na popis pracovního postupu ze základní školy. V odborném textu se snažíme vyvarovat popisu toho, že jsme něco někam napipetovali, že jsme vyklepli tekutinu z destičky, že jsme při přípravě 5% roztoku smíchali 50 ml látky s 950 ml vody atd.
4. Bylo by dobré se v odborném textu vyvarovat laboratorního slangu typu „binolupa“, „infralampa“, „střevo“ (dialyzační membrána) apod.
5. Rozdíly ve střední době přežití jsou asi nejzajímavějším výsledkem celé práce. Bohužel tyto výsledky jsou presentovány pouze ve formě grafu. Postrádám tedy uvedené hodnoty střední doby přežití spolu se směrodatnou odchylkou.

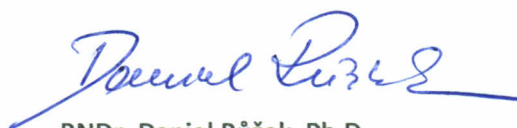
Na autorku bych měl následující dotazy:

1. V závěru práce je uvedeno, že intratumorální podání bakterií *S. maltophilia* má výrazný vliv mj. na růst nádoru. Nicméně v pokusu č. 1 žádný efekt, co se objemu nádoru týče, pozorován není, zatímco v pokusech 2. a 3. ano. Jak si autorka rozdíly v těchto výsledcích vysvětluje?
2. Zhruba srovnatelných výsledků je dosaženo po aplikaci živých a sonikovaných bakterií. Může autorka toto pozorování stručně komentovat? Lze očekávat, že povrchový náboj po sonikaci nebude změněn?
3. Bylo by možné vůbec o *S. maltophilia* uvažovat jako o potenciálním možném terapeutiku, vzhledem k tomu, že se jedná o oportunního patogena, který způsobuje onemocnění zejména u imunokompromitovaných pacientů, což jsou často lidé právě s nádorovým onemocněním?
4. V pokusu č. 1 je pozorován klesající trend tělesné teploty u všech sledovaných jedinců v čase (a to až na hodnoty, které lze pokládat za nefyziologické), zatímco u pokusu č. 2 podobný trend pozorován nebyl. Jak si lze uvedené rozdíly vysvětlit? Byly myši ustájeny v místnosti s regulovanou teplotou?
5. Jak si autorka vysvětluje pozorování, že zatímco objem nádoru byl signifikantně menší u skupin léčených celými i sonikovanými *S. maltophilia* v porovnání s kontrolou, vliv na střední dobu přežití je pozorován pouze v případě sonikovaných bakterií?

Závěr: Předložená bakalářská práce se zabývá zajímavou problematikou. Rozsah experimentální práce odpovídá kvalitním bakalářským pracím na Přírodovědecké fakultě JU. Některé z výsledků jsou

poměrně zajímavé a po doplnění dalších důležitých experimentů by mohly být základem pro publikaci ve vědeckém periodiku. Slabinou práce je špatný design experimentů a slabá autorčina schopnost práce s literaturou. To však lze částečně omluvit tím, že se jedná o autorčinu první odbornou práci. Před sepsáním diplomové práce doporučuji autorce si prostudovat jiné dříve obhájené a pozitivně hodnocené práce jako inspiraci (ideálně práce studentů z jiných laboratoří), či si přečíst knihu „Jak psát a přednášet o vědě“ (Z. Šesták, Academia, 2000).

Navzdory výše uvedeným kritickým připomínkám stvrzuji, že předložená práce splňuje veškeré nároky kladené Přírodovědeckou fakultou Jihočeské univerzity v Českých Budějovicích na bakalářskou práci a doporučuji ji k obhajobě. Klasifikaci určím až po obhajobě.



RNDr. Daniel Růžek, Ph.D.

V Českých Budějovicích 22. května 2012