

OPONENTSKÝ POSUDEK BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

Autorka: Nikol Vácová

Název práce: Studium možnosti použití formylmethioninových peptidů v protinádorové terapii

Vedoucí práce: RNDr. Jan Ženka, CSc.

Nikol Vácová předložila bakalářskou práci řešící problematiku a možnosti léčby nádorového onemocnění pomocí formylmethioninových peptidů. Řešená problematika je z vědeckého pohledu velmi zajímavá, zejména díky použití imunoterapeutické léčby na modelu melanomu, tedy velmi invazivního typu nádoru.

Předložená práce má rozsah 54 stran a svou strukturou a grafickou úpravou plně vyhovuje požadavkům vyplývajícím z Opatření proděkanky pro studium č. P1 o předkládání bakalářských a diplomových prací na Přírodovědecké fakultě JU ze dne 15. 4. 2011. Práce úspěšně prošla testem pro odhalování plagiátů mezi závěrečnými pracemi (Theses.cz), lze ji tedy považovat za originální práci autorky. Práce má klasické členění kapitol a je psána srozumitelnou a čtivou češtinou s minimálním množstvím překlepů a gramatických chyb.

V úvodu se autorka zabývá všemi aspekty řešené problematiky a podává velmi ucelenou literární rešerši, která celkem čítá celkem 25 stran. Z logického členění úvodu a způsobu psaní textu plyne, že autorka je plně obeznámena danou problematikou. Cíle práce jsou logicky a jasně formulované a vzájemně provázané. Metodická část je logicky zpracovaná a podává ucelený přehled o metodických postupech a používaných metodách. Kapitola Experimentální výsledky je přehledně a logicky členěna dle daných cílů práce. Celkem tato kapitola čítá 12 stran a obsahuje 11 velmi podrobných a přehledných grafů. Diskuzní část je velmi dobře zpracována, věcně diskutující získané výsledky na plných 3 stranách. Výsledky zde jsou nejenom logicky zdůvodněny dle dostupných poznatků z literatury, ale také dány do kontextu s dalšími pracemi studentů/studentek dr. Ženky, které se též týkaly formylmethioninových peptidů a jejich účinku v nádorové terapii. V závěru diskuze je pak naznačeno další možné pokračování experimentů. Závěrečná část shrnuje získaná experimentální data a takto odpovídá na stanovené cíle. Kapitola týkající se použité literatury obsahuje více než 60 pramenů, z nichž 24 je českého původu. Seznam literatury je psán jednotným stylem a odpovídá požadavkům kladeným na vědeckou práci.

K formální stránce práce mám několik drobných poznámek a doporučení:

- i. Komůrka určená ke zjištění koncentrace buněk se správně nazývá „Bürkerova“ (str. 27).
- ii. Dle České normy pro úpravu písemností se při používání víceúrovňové číslování za poslední číslici nepíše tečka.
- iii. V rešeršní části je příliš často citováno z učebnic, review a jiných nepůvodních pramenů. Minimálně u některých tvrzení by bylo vhodné dohledat originální práci či vycházet z více nezávislých zdrojů.
- iv. Nedoporučuji některé anglické výrazy doslovně překládat do českého jazyka (např. termín „nahé myši“ uvedený na str. 22, který autorka použila pro tzv. „nude mice“; zde by naprosto stačila jejich charakteristika).
- v. Poměrně rušivým dojmem působí nejednotný systém vysvětlení zkratk, který provází celou práci, ale nejvíce je patrný v úvodní části. Vzhledem k velmi kvalitně vypracovanému seznamu zkratk na str. 49 a 50 bych doporučovala použít stejný systém vysvětlení zkratk i v textové části práce (při prvním znění).
- vi. V kapitole 3.1 autorka uvádí používané chemikálie, jejich soupis zde však není úplný. Postrádám zde např. některé chemikálie používané pro přípravu kultivačního media (uvedené dále v kap. 3.2) či PBS (uvedený v kap. 3.3). Ačkoliv PBS je široce používaná chemikálie, její složení a pH by v práci mělo být uvedeno. Stejně tak vysvětlení zkratky PBS při jejím prvním použití v textu.

- vii. Bývá zvykem uvádět k daným chemikáliím nejenom výrobce, ale i jeho sídlo (např. Sigma-Aldrich, USA)
- viii. V kap. 3.9.1 popisujete metodický přístup k detekci produkce cytokinů v nádoru. Vzhledem k tomu, že ve výsledných grafech uvádíte přepočet produkce cytokinů na 1 mm³ tkáně, předpokládám, že objemy nádorů byly měřeny vždy v daném intervalu těsně před vyjmutím nádoru z myši. Nicméně tato skutečnost by měla být v metodické části jasně vysvětlena.

K předložené práci mám několik dotazů a žádám autorku o jejich zodpovězení při ústní obhajobě:

1. Na str. 6 uvádíte, že existují tzv. amelanotické melanomy. Jak se takový melanom v klinické praxi detekuje?
2. Na str. 6 popisujete čtyři základní subtypy melanomu. Ke kterému subtypu byste zařadila Vámi používaný model B16-F10? Dá se předpokládat, že testované léčivé látky budou mít stejný efekt na všechny čtyři subtypy melanomu?
3. Na str. 15 uvádíte, že IL-6 se řadí k prozánětlivým cytokinům. IL-6 však může také za určitých podmínek působit protizánětlivě. Uveďte příklad, jakým způsobem je dosaženo protizánětlivého efektu IL-6. Je možnost, že by tato situace nastala v nádoru po aplikaci léčivé látky?
4. Na str. 20 uvádíte jako jednu z možností imunoterapie použití dendritických buněk. V textu vysvětlující princip této terapie však zmiňujete pouze makrofágy, vůbec zde není řeč o dendritických buňkách. Uveďte tuto nesrovnalost na pravou míru.
5. Na str. 26 uvádíte, že jednou z používaných chemikálií je trypanová modř. Nikde však není uvedena její koncentrace. Doplňte tento údaj.
6. Na str. 27 uvádíte, že „buňky byly kultivovány v RPMI 1640 s 10 % FCS, antibiotiky, glutaminem a merkptoethanolem“. Nikde však nejsou uvedeny koncentrace používaných antibiotik, glutaminu a merkptoethanolu. Doplňte tyto údaje. Jaký je důvod přidávání merkptoethanolu do kultivačního média?
7. Na str. 27 uvádíte, že „buňky byly zbaveny média promytím sterilním fyziologickým roztokem“. V kapitole zabývající se metodikou však nikde není uvedeno složení a případné pH tohoto fyziologického roztoku. Doplňte tyto údaje.
8. Na str. 28 popisujete vzorec používaný k výpočtu objemu nádoru. Doložte správnost tohoto vzorce původní citací či objasněním, jak jste na daný vzorec přišli.
9. V metodické části uvádíte, že všechny látky byly sterilizovány filtrací. Doplňte, jaký typ filtračního sítky byl pro sterilizaci roztoků použit (mám na mysli velikost pórů).
10. Ve všech grafech týkajících se detekce produkce cytokinů nádorovými buňkami postrádám kontrolu uvádějící, jaká byla produkce těchto cytokinů před aplikací léčivých látek (příp. kontrolního PBS), tedy v čase 0. Byly tyto cytokiny v tomto termínu v nádorové tkáni detekovány? V případě, že ano, je neuvedení těchto údajů způsobeno hladinou cytokinů pod hranicí detekovatelnosti?
11. Jedním ze základních prozánětlivých cytokinů je IFN γ . Vzhledem k tomu, že je důležitým aktivátorem fagocytujících buněk nespecifické imunity, očekávala bych jeho detekci ve Vašich experimentech. Proč tedy nebyl tento cytokin detekován?
12. Na str. 39 je uvádíte v názvu kapitoly „Působení f-MLFKK-SMCC samotného i ve směsi s LPS na růst melanomu B16-F10“. V názvu grafu ale uvádíte „Vliv terapie na velikost nádoru“. Domnívám se, že se jedná o dva snadno zaměnitelné pojmy. Ve Vašem případě ze statistického zhodnocení plyne, že hodnoty získané po dané terapii byly porovnávány vůči kontrole PBS. Tedy se nejedná o vliv terapie na velikost nádoru, ale pouze na růst nádoru. Bylo provedeno také statistické porovnání vlivu terapie na velikost (objem) nádoru s původní hodnotou v čase 0, tedy před aplikací léčivých látek? (Tato otázka platí i pro další grafy týkající se vlivu léčiva na růst či velikost nádoru – str. 41, 43).
13. Na str. 40 je uveden graf „Vliv terapie na délku přežití myši“. Z grafu není patrné (alespoň z jeho tištěné podoby), kdy přesně došlo k úhynu myši léčených směsí f-MLFKK-SMCC s LPS (skupina B, zelená čára). Mohla byste tuto skutečnost uvést?

14. Byl sledován vliv léčiv založených na formylmethioninových peptidech na metastázování nádoru v nějakém experimentu vašich kolegů/kolegyň? Pokud ano, byl zde patrný nějaký efekt toho léčiva na rozšíření metastáz v organismu?

Uvedené nepřesnosti, které v posudku uvádím a žádám autorku o jejich doplnění, považuji za drobné nedostatky plynoucí z faktu, že se jedná o první vědeckou práci autorky. Zde v posudku je zdůrazňuji zejména proto, aby si jich byla autorka vědoma a v následující práci (pracech) se jich vyvarovala.

Celkově předloženou práci hodnotím velmi kladně, zejména proto, že ačkoliv se jedná o bakalářskou práci, obsahuje nejenom kvalitní rešerši, ale i rozsáhlou experimentální část. Z textu a způsobu zpracování práce je patrné, že autorka plně pochopila nelehkou problematiku imunoterapie nádorů a zvládla řadu metodických postupů i práci se experimentálními zvířaty. Autorka též zvládla vyhodnotit a věcně popsat získaná data a dát je do kontextu s již známými poznatky. Proto danou práci považuji za zdařilou a **tímto ji doporučuji k obhajobě na Přírodovědecké fakultě Jihočeské univerzity.**

V Českých Budějovicích dne 23. 5. 2013

RNDr. Marie Jalovecká

