

Oponentský posudek na bakalářskou práci Veroniky Bumbové
„ Analýza protinádorového účinku ligandu fMLF, in vitro“

Téma bakalářské práce Veroniky Bumbové spadá mezi problematiku zaměřenou na imunoterapii nádorových onemocnění, kterou se na katedře Medicínské biologie dlouhodobě zabývá tým Dr. Jana Ženky. Tato práce si klade za cíl jednak podrobně shrnout danou problematiku a jednak experimentálně zhodnotit jaký vliv má ligand fMLF navázaný na nádorové buňky na jejich zabití buňkami přirozené imunity - neutrofilů. Do cílů práce je rovněž vhodně zařazeno srovnání dvou cytotoxických testů, které mohou být použity pro stanovení cytotoxického efektu neutrofilů i v budoucnu.

Předkládaná bakalářská práce, jejíž těžiště spočívá především v podrobné literární rešerši, má obvyklou strukturu, skládající se z literárního přehledu (25 stran), cílů (1 strana), materiálu a metod (8 stran), výsledků (4 strany), diskuse (3 strany), závěru (1 strana) a seznamu použité literatury (15 stran) čítajícího úctyhodných 177 citací.

V práci se nachází mnoho drobných nedostatků, jako jsou časté překlepy (kterých úměrně přibývá ke konci práce), používání hovorových či krkolomných obrátů (např. str. 1 ačkoliv se po světě udělalo již tolik výzkumů..., leukocytové chemoatraktanty str. 21) a nedbalá stylistická úprava, která snižuje srozumitelnost celé práce (např. str. 29 začíná slovem Postup, bez zařazení do podkapitoly, takže čtenáři není na první pohled jasné, k čemu se zmíněný postup vztahuje). Také vysvětlení zkratk v textu je velmi nejednotné což značně ztěžuje orientaci čtenáře, některé zkratky vysvětleny jsou a některé nejsou (např. zkratka PAMP).

Bohužel kromě těchto drobných nedostatků, mám k práci několik faktických připomínek:

- I přes značný počet citací v souhrnu citované literatury, u mnoha kapitol nebo jejich částí chybí citace! :

Kapitola 1.2.1 vznik rakoviny-celá kapitola
1.2.3 poslední odstavec
1.2.4 pentózový cyklus nádorových buněk – celá kapitola
1.4.1 Přirozená imunita – úvod + bod I.
1.4.1 str. 9 dělení vrozené imunity
1.4.2 adaptivní imunita – úvod
1.5 reakce imunitního systému na nádory – úvod

- V některých kapitolách jsou citovány knihy mající charakter výukového textu (skript) pro studenty či populárně vědecké časopisy a to i přesto, že katedra medicínské biologie se tento nešvar snaží dlouhodobě vymýtit. Hojně citovaná je např. kniha Krejska a Kopeckého Klinická imunologie z roku 2004, z níž je čerpána převážná část informací o imunitním systému. V podstatě celá kapitola pojednávající o metabolismu nádorové buňky (1.2.3, str. 2-4) je převzatá z článku Rakovinná buňka a změny jejího metabolismu: cesta k přežití i nástroj k destrukci, který publikovala v populárně vědeckém časopise Živa Věra Slaninová. Navíc některé informace z tohoto článku jsou převzaty nesprávně, viz níže.

- Kapitola 1.3, pojednávající o Imunoeditaci, se velmi nápadně jeví jako opsaná z anglické verze wikipedie <http://en.wikipedia.org/wiki/Immunoediting>

- V kapitole 1.2.3 je citován německý biochemik Otto Warburg avšak jako citace je použito review Chen et al. 2014, bylo by však správné uvést citaci původní Warburgovi práce, obzvláště když je v textu jmenovitě zmíněn.

- Především literární část práce není ucelená, některé kapitoly jsou vytržené z kontextu a postrádají návaznost na předchozí text. Např. v kapitole 1.4.1 o přirozené imunitě (která je sama o sobě velmi chaotická protože postrádá jakékoliv podkapitoly a čtenář se ztrácí), je u žírných buněk (str. 12) uveden samostatně Vliv IL-3 na žírné buňky aniž by bylo v předchozím textu vysvětleno proč je tato kapitola důležitá a jaký má vztah k ostatním informacím.

- Již zmiňovaná kapitola 1.4.1 je velmi nejednotná co se obsahu týče, např. podkapitola o dendritických buňkách má půl stránky, zatímco kapitola o NK buňkách má strany dvě. Rovněž informace uvedené k jednotlivým druhům buněk nejsou ucelené. Přitom se domnívám, že v podrobné literární rešerši by autorka neměla dělat rozdíly mezi jednotlivými imunitními buňkami, protože každá z nich hraje v řízení imunitních reakcí specifickou a stejně důležitou úlohu.

- V úvodní kapitole 1.2.1 pojednávající obecně o rakovině postrádám zmínku o onkogenech (resp. protoonkogenech) a tumorsupresorových genech, které mají zásadní vliv pro rozvoj rakoviny. Domnívám se, že v tomto typu rešerše by alespoň základní informace o těchto genech zahrnuté být měly.

- Kapitola materiál a metody: Dle mého názoru by informace o principu cytotoxických testů měly být zařazeny na začátek této kapitoly, aby měl čtenář možnost se s nimi seznámit dříve, než začne číst samotný postup. Zařazení těchto podkapitol doprostřed mezi postup a pokusy nedává smysl. U popisu Ziva tox testu, který je dodáván komerčně formou kitu, stačilo napsat, že postup byl prováděn dle návodu výrobce s případnými změnami.

- Kapitola diskuse se jeví na první pohled rozsáhle, 3 strany jsou na bakalářskou práci neobvyklé. Bohužel po přečtení musím konstatovat, že většina je pouze výčtem možností nádorové imunoterapie, které nejsou nijak konfrontovány s dosaženými výsledky. Myslím si, že vhodnější bylo zařadit tyto informace do poslední kapitoly rešerše o terapii nádorů. Samotná diskuse, kde autorka srovnává dosažené výsledky s výsledky jiných autorů, čítá pouze 3/4 stránky.

- dále práce bohužel obsahuje řadu faktických chyb, nepřesností a neúplných informací:

- V kapitole 1.2.3, která je, jak jsem již zmiňovala, převzatá z článku v časopise Živa Rakovinná buňka a změny jejího metabolismu: cesta k přežití i nástroj k destrukci. Uvádí autorka informaci: „Je tedy pravděpodobné, že ve většině případů nemá poškození mitochondrie vliv na potlačení její funkce“ v originálním článku je však napsáno „potlačení funkce mitochondrií není ve většině nádorů způsobeno jejím poškozením“. Je zřejmé, že po přepsání autorkou věta ztrácí původní smysl. Rovněž v podkapitole 1.2.5, kde je opět citován článek Slaninové, uvádí autorka „Za běžných podmínek se NADH vrací do mitochondriální respirace, kde je opět přeměněn na oxidat. formu NAD⁺. Avšak díky tomu, že rakovinné buňky mají utlumený respirační cyklus, začnou buňky zvyšovat produkci laktátdehydrogenázy a přeměňovat pyruvát na laktát a to v cytosolu buňky“ v originále však stojí. „Tato možnost však vzhledem k potlačené respiraci u rakovinných buněk odpadá. Problém lze obejít zvýšenou produkcí enzymu laktátdehydrogenázy, který mění pyruvát v cytosolu na laktát a během tohoto procesu regeneruje NADH zpět na NAD⁺“. Opět obě tyto věty mají trochu jiný význam.

- Na str. 8 autorka uvádí, že signální receptory aktivují NFκB signální systém, tato informace však není přesná, jelikož aktivují i jiné transkripční faktory.

- Na str. 10 v sekci eozinofilní granulocyty autorka uvádí řadu prozánětlivých cytokinů které jsou vylučovány po aktivaci eozinofilů, jako reference je uvedena publikace Kita 1996. V této publikaci však uvedené cytokiny nejsou zmíněny. Nabízí se tedy otázka (jako u mnoha jiných informací) kde autorka citované informace získala.

- Na str. 16. Je uvedeno, že pro klasicky aktivované makrofágy je typická produkce IL-1, IL-2 a IL-3, která má vliv na vývoj Th17. Tato informace je však opět chybná a navíc ani v jednom z citovaných článků není obsažena.
- V kapitole 1.4.2 o adaptivní imunitě na str. 18 je uvedeno, že Th lymfocyty lze dělit na Th1 a Th2. Tato informace je opět nekompletní a domnívám se, že pro podrobnou rešerši nedostačující.

Na autorku mám několik doplňujících otázek:

1. Mohla byste doplnit chybějící citace, které uvádím výše?
2. Je rozdíl mezi Volnými radikály kyslíku a tzv. Reaktivními formami kyslíku? Jestli ano tak jaký.
3. Jakou roli hrají trombocyty a erytrocyty v přirozené imunitě?
4. Jaké jiné transkripční faktory, kromě NF- κ B mohou být aktivovány pomocí signálních receptorů?
5. Které cytokiny mají vliv na vývoj a udržení Th17?
6. V kapitole o neutrofilech uvádíte, že vnímají zánětlivé podněty především prostřednictvím receptorů spřažených s G proteinem. O které receptory konkrétně se jedná?
7. Co je to DOPE a jak bylo s fMLF ligováno?
8. U pokusu s Ziva-Tox uvádíte, že pokus byl prováděn 5x, kolikrát byl prováděn pokus s radioaktivním chromem?
9. U pokusu č. 1 jste použila jako pozitivní kontrolu nádorové buňky aktivované pomocí PMA. Byla stejná pozitivní kontrola použita také v pokusu č. 2 v testu s radioaktivním chromem? Pokud ano tak proč není v práci uvedena, pokud ne tak proč nebyla pozitivní kontrola použita?

Závěr: Předkládané téma má vzhledem k návaznosti na další výsledky skupiny Dr. Ženky velký potenciál, který bohužel především v rešeršní části nebyl plně využit. Práci chybí ucelenost a propracovanost, která by na danou problematiku přinesla ucelenější náhled. Po důkladném zvážení však i přes všechny výše uvedené výhrady a připomínky, považuji předloženou bakalářskou práci Veroniky Bumbové za vyhovující současnému standardu na Přírodovědecké fakultě JU a **doporučuji ji k obhajobě.**

V Českých Budějovicích dne 11. 5. 2015


Mgr. Jana Páleníková