

Oponentský posudek na magisterskou diplomovou práci Simony Glaserové „Studium klinicky aplikovatelné nádorové imunoterapie a jejich mechanismů“

Simona Glaserová předložila diplomovou práci snažící se primárně o posouzení jednotlivých způsobů protimelanomové imunoterapie a hledání dalších východisek pro tuto rozsáhlou tematiku. Navazuje na předchozí práce ve skupině dr. Ženky. Posouzení jednotlivých způsobů imunoterapie se mi jeví jako další postupný krok ve výzkumu této zajímavé a důležité problematiky.

Formálně se jedná o klasicky členěnou diplomovou práci sestávající z literárního úvodu, vytyčených cílů, popisu použité metodiky, prezentace výsledků a diskuse ukončené stručným ale přehledným souhrnem dosažených poznatků. Úvod je dosti podrobný, působí však dojmem, že byl zpracován o něco méně pečlivě než vlastní experimentální práce (většina formálních připomínek se týká této části práce). Popis metodiky je dostačující, výsledky jsou shrnuty přehledně, diskuse je smysluplná.

Konkrétní připomínky:

„Geneticky, tento vícestupňový proces zahrnuje aktivaci protoonkogenů, inaktivaci tumor supresorových genů a epigenetické události, které mění genovou expresi a procesy které jsou zapojeny do buněčné smrti, oprav DNA a metylace (Wegler 2014).“ (str. 4) – jazykově podivná věta

„Co se týká melanomu B16 jako modelu pro lidský melanom, jedná se o vhodný model.“ (str. 6) - neobratné vyjádření

„role neutrofilů v maligních onemocnění“ (str. 8) – překlep

„Protinádorová aktivita neutrofilů je dokládána v nejméně čtyřech hlavních systémech a scénářích:“ + následující výčet (str. 9) – jsou tím myšleny různé situace, které je možno vysvětlit protinádorovou aktivitou neutrofilů?

Výraz „rakovina“ (str.9 a i jinde) je poněkud novinářský, lépe by bylo použít např. výrazu „zhoubné/maligní bujení“

Používání výrazu „T buňky“ a „T lymfocyty“ promiscue

„T efektorové buňky“ a „T regulační buňky“ (str. 14) – jsou myšleny Tc a Th lymfocyty?

„ $V = \pi/6 AB^2$ “ (str. 31) – správně $V = (\pi/6) AB^2$, vzorec pro objem rotačního elipsoidu (opakující se chyba v pracích skupiny dr. Ženky)

Závěr:

Předložená magisterská diplomová práce Simony Glaserové se mi jeví jako velmi kvalitní. Uvedené připomínky jsou pouze víceméně formálního charakteru a zejména zpracování experimentální části práce je příkladné. Práci považuji za plně vyhovující požadavkům Přírodovědecké fakulty Jihočeské univerzity a **doporučuji** ji proto k obhajobě.

V Českých Budějovicích 5. května 2015

MUDr. Pavel Žampach



Posudek oponenta na magisterskou diplomovou práci Bc. Simony Glaserové „Studium klinicky aplikovatelné nádorové imunoterapie a jejich mechanismů“

Práce je součástí rozsáhlého projektu zaměřeného na využití ligandů fagocytárních a Toll-like receptorů pro imunoterapii nádorů který řeší skupina studentů kolem dr. Ženky. V diplomové práci jde o nalezení náhrady LPS toxického pro člověka, zhodnocení významu neutrofilů pro imunoterapeutický efekt ligandů a posouzení významu neutrofilových extracelulárních pastí pro protinádorový efekt neutrofilů.

Diplomová práce se skládá z literárního úvodu (27 stran), cílů práce, materiálu a metod, výsledků, diskuze, závěrů a přehledu literatury. Celkový rozsah práce je 66 stran.

Literární úvod se věnuje mechanismům vzniku nádorů, konkrétně použitému melanomu B16F10, stručnému přehledu imunitních mechanismů a podrobněji nádorové imunologii. Informace o imunoterapii nádorů je už cílena na pattern recognition receptors a konkrétní agonisty TLR a fagocytárních receptorů a další látky použité v diplomové práci. Úvod je velmi pěkně napsán krásným „vědeckým“ jazykem a je dostatečně rozsáhlý.

Kapitola Materiál a metody je dostatečně podrobná a popisuje všechny metody použité v práci včetně schémat jednotlivých experimentů.

Výsledky jsou ilustrovány 16 grafy včetně směrodatných odchylek a statistické významnosti rozdílů. Výsledky uvedené v grafech jsou dobře popsány v doprovodném textu. Za hlavní výsledky považují nalezení resiquimodu (schváleného pro lokální použití u člověka) jako náhrady toxického LPS v kombinaci s mananem a poly I:C. Zdá se, že poly I:C, která indukuje maturaci dendritických buněk může přispívat k vývoji adaptivní protinádorové imunity i imunologické paměti. Výsledky pokusu s deplecí neutrofilů pomocí anti-Ly6G protilátky asi nedopadly úplně podle předpokladů, ale v experimentu chyběla kontrola účinnosti deplece. Velmi zajímavé jsou výsledky pokusů analyzujících význam NETs v protinádorovém efektu neutrofilů. Autorka prokázala pomocí specifického inhibitoru tvorby NETs Cl-amidinu, že NETs se výrazně na cytotoxickém účinku neutrofilů podílejí.

Diskuse na téměř 4 stránkách podrobně a zasvěceně diskutuje jednotlivé výsledky a porovnává je se světovým písemnictvím i výsledky dalších studentů týmu. Přehled literatury obsahuje 87 citací.

Celkově je práce velmi dobře napsána, je přehledná, logická s velmi malým množstvím chyb. Získané výsledky jsou cenné.

K práci mám několik dotazů a připomínek.

1. Jaké mohou být pronádorové aktivity TAM (tumor-associated neutrophils)
2. Jak funguje imunoterapie melanomu založená na ovlivnění CTLA-4 receptoru?
3. Jaká je šance využití poly I:C v terapii lidských nádorů vzhledem k její toxicitě?

Drobnější připomínky:

- str. 30: koncentrace ATB nebo 2-ME v mediu jsou udány v procentech, což není přesné (snad kdyby byl udán u ATB výrobce), jinak je u ATB koncentrace 100 j. PNC/ml, 100 µg SMC/ml a 2,5 µg fungizonu/ml. 2-ME je v konečné koncentraci 50 µM.
- str. 3: místo pokojová teplota je lépe uvádět laboratorní teplota neb pokusy neprovádíme v pokoji.
- str. 34: jak byla stanovena čistota neutrofilů 91%?
- str. 35: jak byly myším podávány preparáty per os?
- str. 37 dole: jak mohl být do jamek přidán 0,004 mM Cl-amidin na 0,1 mM koncentraci?
- str. 41 dole: místo metastáz má být metastázy
- str. 48 a 49 obr. 21 a 22: špatný popis posledního sloupečku.

Závěr: Simona Glaserová napsala velmi zdařilou diplomovou práci, která nepochybně splňuje požadavky Přírodovědecké fakulty JU v Českých Budějovicích.

Navrhuji hodnocení **výborně**.

V Č. Budějovicích 19. 5. 2015


Prof. RNDr. Jan Kopecký, CSc.