

**Posudek na diplomovou práci Bc. Adély Jačkové:
„Hledání agonistů TLR působících synergicky s ligandy fagocytárních receptorů
v nádorové terapii“**

Předložená diplomová práce se zabývá aktuální tematikou protinádorové terapie pomocí cílené stimulace imunitní odpovědi hostitele. Tato problematika je již dlouhodobě řešena na pracovišti školitele a předložená diplomová práce představuje jeden z mnoha výstupů výzkumu.

Diplomová práce je tradičně rozdělena do hlavních kapitol úvod, přehled literatury, cíle práce, materiál a metody, výsledky, diskuze, souhrn, seznam zkratk a použitá literatura, které obsahují celou řadu podkapitol. Celkový rozsah práce činí 77 stran.

Úvodní část diplomové práce je zpracována precizně a přehledně, přičemž čtenář postupně uvede do složité problematiky rakoviny a složek imunitního systému, které se protinádorové terapie účastní. Tato část práce je zdařile napsaná a nezahluje čtenáře přemírou zbytečných informací a sděluje informace, které jsou nezbytně nutné k pochopení zvoleného přístupu k výzkumu.

Cíle práce jsou jasně formulovány do pěti dílčích bodů, zabývajících se hledáním náhrady LPS, prodloužením účinku terapie a vyhodnocením aktivity neutrofilů.

Kapitola materiál a metody obsahuje soupis všech hlavních postupů a metod používaných během experimentů včetně detailních popisů jednotlivých provedených experimentů.

Výsledky jsou podrobně zpracovány, dokumentovány řadou grafů a jsou rozděleny podle jednotlivých experimentů, odpovídajícím popisu v kapitole materiál a metody. Grafy přehledně shrnují slovy psané výsledky a názorně ukazují výsledky statistických analýz.

V diskuzi autorka konfrontuje své výsledky vlivu imunoterapie jak s domácí, tak zahraniční literaturou.

Souhrn je jasně a přehledně formulován a víceméně odpovídá stanoveným cílům práce.

Je nutno zdůraznit, že v předložené diplomové práci obsahuje pouze několik málo formálních chyb ve formě překlepů a formulačních nepřesností a řadí se tímto k nadstandardu.

K autorce mám několik věcných dotazů:

1. **Čím si autorka vysvětluje srovnatelnou výši redukce nádorových buněk i přes zvýšený poměr neutrofilů vůči nádorovým buňkám? (kapitola 5.6.3)**
2. **Jak si autorka vysvětluje nízké rozdíly v množství uvolněné MPO po interakci neutrofilů s melanomovými buňkami v grafu Obr. 22? Je možné usuzovat na potenciální účinek jiné efektorové molekuly, která ale nebyla cílem předkládané práce?**

Závěr: Předloženou diplomovou práci považuji za velmi zdařilou, splňující vytyčené cíle. Svědčí o schopnosti autorky pracovat s vědeckou literaturou, plánovat, provádět i vyhodnocovat experimenty a ze získaných výsledků vyvozovat závěry. Výsledky diplomové práce Bc. Adély Jačkové doplňují a rozšiřují výsledky studií a experimentů prováděných v laboratoři školitele.

Předložená diplomová práce Bc. Adély Jačkové splňuje veškeré požadavky kladené na diplomové práce na Přírodovědecké fakultě Jihočeské univerzity v Českých Budějovicích a **doporučuji ji k obhajobě**. Po úspěšném obhájení diplomové práce navrhuji hodnocení **výborně**.

V Českých Budějovicích, 21. 5. 2015

RNDr. Bohumil Sak, Ph.D.

Bohumil Sak



Oponentský posudek na magisterskou práci

Autorka: **Bc. Adéla Jačková**

Název práce: **Hledání agonistů TLR působících synergicky s ligandy fagocytárních receptorů v nádorové terapii**

Předkládaná diplomová práce se zabývá možnostmi experimentální terapie nádorových onemocnění s využitím stimulace buněk přirozené imunity. Práce má celkem 77 stran a je členěna na kapitoly: Úvod, Přehled literatury, Cíle práce, Materiál a metody, Výsledky, Diskuze, Souhrn, Seznam zkratk a Použitá literatura. V těchto oddílech autorka popisuje a diskutuje získaná data formou vědeckého sdělení. Autorka využívá k vyhodnocení *in vivo* i *in vitro* experimentů celou řadu metod, kterými se snaží zhodnotit účinek terapie. Pozitivně vnímám zejména snahu vyhodnotit buněčnou infiltraci nádorů jednotlivými subtypy leukocytů pomocí průtokové cytometrie a dále pak měření cytotoxického efektu neutrofilů na nádorové buňky doplněné ještě o měření množství produkované myeloperoxidázy.

K práci mám následující připomínky a *dotazy*:

- ***Autorka v úvodu zmiňuje, že melanom je možné léčit pomocí genové terapie (str. 3). Jak taková léčba u tohoto typu onemocnění probíhá?***
- ***Dopravují APC antigen do lymfatických uzlin opravdu na svém povrchu (str. 4)? Toto tvrzení je poněkud zavádějící, může ho autorka uvést na pravou míru?***
- ***Co autorka myslí tvrzením, že MPO se vyskytuje kromě neutrofilů také v lyzozomech a monocytech (str. 6)?***
- Doporučuji používat raději terminologii „neutrofil adhezuje“ namísto „se neutrofil adhezuje“ (str. 7), „zlomení vazů“ namísto „stržení vazů“ (str. 24), „desetkrát ředěný“ namísto „desetkrát zředěnější“ (str. 34), „dosaženo delšího léčebného účinku“ namísto „dosaženo delší léčby“ (str. 59), „infiltrace neutrofilů“ namísto „nábor neutrofilů“, „infiltrující neutrofilové buňky“ namísto „naverbované neutrofilové buňky“ (str. 60). Při popisu metody průtokové cytometrie je lepší používat termín „buňky“ případně „částice“ namísto „události“ (str. 29).
- ***Jak souvisí přítomnost nebo nepřítomnost MHC molekul na buňkách s rozpoznáním B-lymfocytů (str. 8)?***
- ***Pocházely použité myši opravdu z Charles River Laboratories (str. 23)?***
- Není uvedena koncentrace chloridu amonného používaného k odstranění erytrocytů (str. 24).
- Doporučuji raději uvádět, že „získaný roztok byl uchovávaný při pokojové teplotě“ namísto „při 200°C“ (str. 26).
- ***Co autorka myslí termíny: „velmi signifikantní“ (str. 38) a „trochu prodloužil“ (str. 42), „rozdíly mezi skupinami byly malé“ (str. 54), „rozdíly mezi skupinami nejsou natolik významné“ (str. 60)?***
- Namísto „lymfocyty (CD3+ buňky)“ by mělo být uvedeno „T-lymfocyty (CD3+ buňky)“ (str. 45 a 47).
- V grafech hodnotících infiltraci leukocytů do nádorů jsou uvedeny dva stejné sloupce pro čas 0, dle mého názoru je to zavádějící, a měl by být uveden pouze jeden, protože byly hodnoceny pouze tři kontrolní myši bez jakéhokoliv terapeutického zásahu (str. 46 a 47).
- ***Jak si autorka vysvětluje „značnou velikost negativní kontroly“ u měřené myeloperoxidázy (str. 48)?***
- Zkratky f-MLF, f-MLFKK-BAM, H MLFKK-BAM nejsou uvedeny v seznamu zkratk.
- ***Z jakého důvodu byl statisticky významný rozdíl cytotoxického efektu neutrofilů (obr. 18) vztahován ke skupině B a ne D?***



- ***Jak si autorka vysvětluje relativně velkou naměřenou hodnotu MPO v sonikovaných nádorových buňkách (obr. 22)?***
- Doporučuji v rámci vědeckého textu nepoužívat citace typu „(Ženka, ústní sdělení) (str. 57)“.
- ***Jak si autorka představuje, že se „nádorové buňky pod vlivem f-MLF“ zabijejí navzájem (str. 61)?***

Autorka se při vlastní experimentální práci seznámila s celou řadou laboratorních metod a předložila k posouzení zejména z hlediska množství získaných výsledků velice rozsáhlý spis. Sepsáním předkládané diplomové práce prokázala schopnost samostatné práce s vědeckou literaturou

Práci doporučuji k obhajobě.

V Brně 22. 5. 2015

RNDr. Jiří Salát, Ph.D.

