

## Oponentský posudek bakalářské práce Karolíny Kvardové

### Nádorová imunoterapie založená na kombinaci TLR7 signalizace a aktivace fagocytózy nádorových buněk. Studium mechanismů a zesílení účinku

Studentka Karolínka Kvardová vypracovala svou bakalářskou práci pod vedením dr. Ženky. On a jeho tým se dlouhodobě zabývají možností terapie nádorů založené na stimulaci imunitního systému. Předkládaná práce je o to zajímavější, že se věnuje vrozené složce imunity, zatímco do medicínské praxe proniká spíše imunoterapie na bázi specifické imunity. V práci je zvolen přístup spočívající v kombinaci stimulace fagocytárních receptorů imunitních buněk, pomocí kotveného mananu, a agonistů signálních receptorů. Autorka se zaměřila na hledání nejvhodnějšího ligandu Toll-like receptorů. Vybrané imunomodulátory pak podrobila *in vivo* i *in vitro* pokusům.

Předložená práce je standardně členěná, psaná dobrou češtinou, bez faktických chyb, pravopisných chyb a s minimem překlepů (např. na str. 7 virální místo virové antigeny nebo na str. 23 živnost místo životnost buněk). Bohužel je bakalářská práce zatížena četnými typografickými nedostatky; především v užívání interpunkčních znamének (zejména v citacích v textu úvodní části), psaní indexů (např. CO<sub>2</sub>, 5x10<sup>7</sup> buněk, vzorec na str. 22). Pojmy *in vitro* či *in vivo* by měly být psány kurzívou. Opakovalo se též chybné psaní zkratky slova intratumorální (i.t), která navíc chybí v seznamu zkratk. Výše zmíněnými vadami trpí i kapitola 2.5.2.1 *Toll-like receptory*, jež se tím stává obtížně srozumitelnou, a vyžaduje pečlivější úpravu.

V rešeršní části autorka dobře prokázala seznámení se s odbornou literaturou a proniknutí do problematiky nádorové imunoterapie. Délka rešerše byla zvolena optimálně a obsah této části je vzhledem k další experimentální části naprosto uspokojivý. Oceňuji přehledně zpracovanou tabulku s TLR agonisty a snahu proniknout do jinak složité buněčné signalizace.

Cíle práce jsou stručně definovány na jedné straně.

V kapitole Materiál a metody jsou přehledně uvedeny a dobře zpracovány metodiky *in vivo* i *in vitro* pokusů. K této části práce mám několik drobných připomínek:

- Místo *L. digitata* by měl být uveden celý název organismu.
- Předpokládám, že *Listeria monocytogenes* byla tzv. heat inactivated. Tato informace by neměla chybět.
- Ve výčtu chemikálií chybí PBS a HBSS.

V experimentální části jsou popsány 4 *in vivo* a 1 *in vitro* pokus. Celkový počet 5 pokusů považuji za více než dostačující pro bakalářskou práci. Jednotlivé experimenty na sebe logicky navazují. Pokusy s paralelním nádorem a retransplantací nádorů přinášejí zajímavé výsledky a informaci o zapojení specifické imunity, což je bez sporu výhodou pro účinnou terapii. Užitečné by bylo studium „předání informace specifické imunitě“, ale to by vydalo na samostatný výzkum. Nejvíce mě zaujal poslední odvážný pokus, ve kterém byly myši ohromně zatíženy nádorem i metastázami, přesto došlo k vyléčení 4 z 10 myší. Ve výsledkové části se objevil pouze jeden drobný nedostatek. Na str. 27 je v Tab. II uvedeno, že neutrofilů byly primované směsí GM-CSF + TNF- $\alpha$ . Není zde uvedený laminarin, který byl podle dalšího textu také součástí směsi.

Diskuze je vypracována na necelých 4 stranách. Autorka diskutuje výsledky své práce s výsledky svých předchůdců, navazuje na ně a srovnává s výzkumem ostatních v týmu. Zároveň autorka porovnává své výsledky z daty uvedenými ve vědeckých člancích. Diskuze by mohla



obsahovat méně faktického popisu výsledků, zato bych uvítala čtenější srovnání se zahraniční literaturou. Z 10 citací odborných zdrojů považuji za relevantní 5 (Underhill a Gantner, 2014; Janotová a kol., 2014; Větvicka a kol., 1996; Kato a kol., 2004; Coley, 1891). Autorka nabízí vysvětlení výsledků pokusů a navrhuje další postup. Možná vysvětlení některých výsledků ovšem chybí. Dotazy k předložené práci uvedu v závěru posudku.

Důležitá zjištění jsou přehledně uvedena na jedné straně v kapitole Závěrečné shrnutí. Citovaná literatura je aktuální a vhodně zvolená. Výběr literatury je rozsáhlý (více než 80 zdrojů). V seznamu literatury chybí dva zdroje (Cawley a Ballou, 1972 a Coley, 1891).

Práce se svým rozsahem přesahuje rozsah standardní bakalářské práce. Pro budoucí psaní diplomové práce bych Karolíně Kvardové obecně doporučila přidat *in vitro* pokusy, rozšířit metodiku a úspěšnou terapii prostudovat více do hloubky. Výsledky takových studií se pak mohou stát součástí odborné publikace. V neposlední řadě bych autorce radila se více zaměřit na úpravu práce.

Přes výše uvedené výhrady považuji práci za zdařilou a splňující nároky kladené na bakalářskou práci. **Doporučuji ji k obhajobě a navrhuji udělit známku v rozmezí 1 až 2.**

#### **K posuzované bakalářské práci mám tyto dotazy:**

- Na str. 17 uvádíte, že manózový receptor se podílí na produkci prozánětlivých i anti-zánětlivých cytokinů. Můžete více přiblížit tuto dvojí funkci? Za jakých okolností dojde k prozánětlivé reakci a kdy k protizánětlivé?
- Při práci s nádorovými buňkami jste používali médium RPMI 1640 s přidavkem deaktivovaného FCS, zatímco v *in vitro* pokusu č. 2 jste pracovala s RPMI 1640 s nedeaktivovaným sérem. V práci nebyla tato změna dostatečně vysvětlena. Prosím stručně doplňte tuto informaci.
- Pokus č. 2 byl proveden s neutrofily z kostní dřeně získanými magnetickou separací pomocí komerčního setu. Byla stanovena čistota takto získaných neutrofilů? Popřípadě deklaruje nějakou hodnotu výrobce setu?
- Na straně 42 je uvedeno, že výsledky u *Listeria* jsou zajímavé. V čem ta zajímavost spočívá? Jaký byl například předpoklad pro použití volné *Listerie* (pokus č. 4) a *Listerie* kotvené (pokus č. 3)?
- U pokusu č. 5 mě nejvíce zaujal velký počet metastáz (28 – 148) nalezený na malých plicích myši. Byl počet metastáz zjišťován na povrchu plic nebo na řezech plicemi? Dále by mě zajímalo, jestli myši, které přežily, jsou stále naživu?
- Na závěr, je-li to možné, uveďte, jaká je v současné době nejlepší používaná terapie v týmu dr. Ženky? A bude-li dále rozvíjena oblast hledání nevhodnějšího TLR agonisty?

V Táboře 18. května 2016

Mgr. Nikol Vácová

*Mgr. Nikol Vácová*