



**Přírodovědecká fakulta**  
**Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích**  
Branišovská 31, 37005 České Budějovice

doc. Mgr. Tomáš Doležal, Ph.D. – Katedra molekulární biologie a genetiky  
Tel: 387772229, E-mail: tomas.dolezal@prf.jcu.cz

---

**Oponentský posudek na diplomovou práci Bc. Anny Venhauerové – Studium významu a mechanismů zapojení získané imunity při nádorové imunoterapii založené na synergii agonistů TLR a ligandů stimulujících fagocytózu**

Anna Venhauerová se v sérii deseti rozsáhlých experimentů pokusila lépe charakterizovat imunologické procesy spojené s imunoterapií karcinomu slinivky a zejména testovat různé modifikace použité imunoterapie, kterou vyvinul tým pana Dr. Ženky. Jedná se o obsáhlé dílo nejen množstvím experimentální práce, ale i rozsahem textu – celkově má práce přes 130 stran, jen úvod má bezmála 40 stran, doplněný zkratkami na 5 stranách a určitě více než 250 citacemi, což naznačuje, kolik materiálů Anna musela zpracovat. Když jsem druhý večer práci pročetl a stále jsem nebyl na konci úvodu, říkal jsem si, že je to prostě zbytečně rozsáhlé a že úvod vědecké práce by měl být přece jen jednodušší a zaměřen na to podstatné pro samotnou experimentální část. Ale za prvé mne čtení bavilo a hodně poučilo a za druhé se úvod skutečně soustředil na to, co je důležité pro pochopení experimentální části – ta je prostě takto rozsáhlá. Proto musím Anně sklonit svůj obdiv. Práce má po formální stránce vše, co má mít, je dobře zpracovaná, až na drobné výjimky čtivá s malým množstvím chyb, s detailním popisem metodologie, dobrou prezentací a popisem výsledků. Cíle práce jsou ovšem poněkud obecně formulované a málo výstižné, myslím, že by je Anna dokázala formulovat lépe. Diskuze ukazuje, že Anna rozuměla tomu, co dělala, a je schopná své výsledky kriticky zhodnotit.

**Nemám žádné pochybnosti o tom, že si Anna zaslouží svou diplomovou práci úspěšně obhájit a prozatím na základě evaluace písemné podoby práce bych se přikláněl k výbornému hodnocení.**

Otázky a připomínky:

1. Na str. 12 Anna píše: „*Takové buňky by měly být likvidovány pomocí NK buněk, které jsou specializovány na vyhledávání buněk s nízkou, vysokou nebo nějak pozměněnou expresí MHC I. Nicméně i tento proces se povedlo nádorovým buňkám obejít pomocí exprese MHC Ib molekul, které celý proces značně znesnadňují (Smyth a kol., 2014).*“

Jakým způsobem exprese MHC Ib tento proces znesnadňují?

2. Na str. 33 Anna píše: „*Ta je za přítomnosti kyslíku zpracována glykolýzou a vzniká laktát. Tento proces je známý jako tzv. Warburgův efekt, při němž dochází k potlačení tvorby ATP v mitochondriích ve prospěch tzv. anaerobní glykolýzy, a to i za dostatečného přísunu kyslíku.*“

Nemyslí Anna tzv. aerobní glykolýzu? Píše, že se to děje i za dostatečného přísunu kyslíku. Pojmy aerobní a anaerobní glykolýza jsou často zaměňovány, může autorka lépe vysvětlit Warburgův efekt a jak souvisí s anaerobní glykolýzou?

3. Mohla by Anna ukázat na obr. 16 jednotlivé body pro dané hodnoty, nikoliv sloupce? Chybové úsečky naznačují velkou variabilitu, což vysvětluje, proč většina porovnání není statisticky významná, ač se rozdíly zdají značné. Jistě je to dané i malým počtem opakování, ale právě proto by bylo přínosnější ukázat konkrétní hodnoty, aby i oponent měl možnost zhodnotit závěry.

4. Obr. 16 ukazuje, že MBTA inhibuje infiltraci NK a makrofágů (toto jsou také jediné statisticky významné odchylky). Má autorka nějaké vysvětlení pro tento efekt?

5. Obr. 17 naznačuje, že MBTA u SCID myši je kontraproduktivní. Anna to v diskuzi přisuzuje efektu anti-CD40 a cytokinové bouři („*Domníváme se, že příčinou úmrtí je CRS (cytokine release syndrom) a za hlavního viníka jsme považovali především IL-12.*“). Nemůže v tom hrát roli také efekt MBTA na výše zmiňovanou sníženou infiltraci NK a makrofágů? Vrozená imunita je důležitá („*Pokus sice naznačil, že primární atak dokáže růst nádorů zbrzdit jen na úrovni vrozené imunity*“) a bez MBTA je přežití SCID myši srovnatelné s wt. Mohla by se Anna pokusit dát efekt na změněnou infiltraci imunitních buněk a efekt MBTA na SCID myši do souvislosti, i když by se jednalo pouze o spekulaci?

6. Str. 79: „*Z grafu procentuální redukce nádoru lze pozorovat, že největší procentuální redukce opět dosáhla skupina MBTA+BG+anti-TGF- $\beta$  s 62,41 % redukcí. Oproti primárnímu nádoru je zde mezi MBTA skupinou a MBTA+BG+anti-TGF- $\beta$  skupinou zásadní rozdíl.*“

Řekl bych, že toto není zásadní zjištění tohoto experimentu – mnohem zřetelnější efekt je, že BG+anti-TGF- $\beta$  má samo o sobě zásadní efekt, MBTA v tomto nehraje žádnou roli. Proč u sekundárního nádoru by BG+anti-TGF- $\beta$  měly takový efekt – je to známo i z dřívějších prací?

V Českých Budějovicích dne 6. 7. 2020

doc. Mgr. Tomáš Doležal, Ph.D.