



POSUDEK OPONENTA NA ~~BAKALÁŘSKOU~~ DIPLOMOVOU* PRÁCI

Autor práce: Bc. Kristýna Danielová

Název práce: Studium imunitní paměti při imunoterapii pankreatického adenokarcinomu

Školitel práce: RNDr. Jan Ženka, CSc.

Oponent práce: Ing. Eva Pokorná, CSc.

Pracoviště oponenta: 1. LF UK, Ústav patologické fyziologie, Praha 2

Bodový rozsah
hodnocení¹ Body

(1) FORMÁLNÍ POŽADAVKY

Celkový rozsah práce (pro bakalářské práce min. 18 stran, pro diplomové práce min. 25 stran), vyváženost rozsahů jednotlivých částí, logická struktura práce (u experimentálních prací doporučení pro teoretickou část do 1/3 celkového rozsahu)	0-3	3
Kvalita literární rešerše (počet použitých původních pramenných zdrojů, vhodnost výběru, aktuálnost zdrojů)	0-3	3
Správnost používání citačních odkazů (přítomnost necitovaných údajů, dodržování jednotného stylu citací, používání oficiálních zkratk časopisů)	0-3	3
Grafická úprava textu a obrázků	0-3	3
Úroveň souhrnu/anotace (i v angličtině)	0-3	3
Jazyková a stylistická úroveň, respektování platného názvosloví	0-3	3
Správnost a úplnost popisů u obrázků a tabulek (srozumitelnost bez zřetele k ostatnímu textu, vysvětlení značek, jednotky uváděných veličin)	0-3	3
Formální požadavky – body celkem		21

(2) VĚCNÉ POŽADAVKY

Splnění cílů práce	0-3	3
Schopnost porozumět výsledkům, jejich interpretace a jasný popis, srozumitelnost diskuze a závěrů	0-3	3
Úroveň diskuse – interpretace výsledků, zařazení do kontextu v literatuře (absence	0-3	3

* Nehodící se škrtněte

¹ Bodový rozsah hodnocení: 0-nevyhovující, 1-vyhovující, 2-průměrné, 3-excelentní. U teoretických prací hodnotíte jenom (1) Formální požadavky, u experimentálních prací i (2) Věcné požadavky a u prací v cizím jazyce i (3) Jazykovou úroveň práce v cizím jazyce.

diskuze výsledků s literaturou je nepřijatelná)

Logika postupu při vlastní výzkumné práci	0-3	3
Úplnost popisu použitých metodik	0-3	2
Experimentální náročnost práce, samostatnost při práci	0-3	3
Úroveň zpracování experimentálních dat	0-3	2
Aktuálnost použitých metod	0-3	3
Přínos práce pro obor a publikovatelnost výsledků (po případném doplnění)	0-3	3
Věcné požadavky u experimentálních prací – body celkem		25

(3) PRÁCE V CIZÍM JAZYCE

Jazyková a stylistická úroveň	0-3	-
-------------------------------	-----	---

CELKEM BODŮ (MAX/ZÍSKANÝCH)

46

Komentář oponenta:

Připomínky a dotazy, na které má student/-ka reagovat při obhajobě. Chyby, na které si má dávat student v budoucnu pozor:

Připomínky:

- 1) Obecně ve všech částech práce je odbornější používat výraz „onkologické onemocnění“, než „rakovina“, nádorové buňky, než rakovinné buňky apod.
- 2) Na straně 19 uvádíte, že se kdysi od terapie DON upustilo pro jeho toxicitu. I když je ve vašich experimentech DON součástí cílené léčby, mělo by být prokázáno, že takto není toxický. Např. přidat skupinu léčenou jen monoterapií DON jako negativní kontrolu a určitě také myši pravidelně vážit. Toxicita by se projevila úbytkem hmotnosti. Nikde v práci ani není uvedeno, že takto užitý DON toxický nebyl. Mimochodem – vážit myši několikrát v týdnu v průběhu experimentů s onkologickou léčbou je běžně užívaný postup.
- 3) Pro experimenty 4.1 (obr. 8), 4.2. (obr. 10) a 4.3. (obr. 12) byla použita stejná CTRL kontrolní skupina myší. Znamená to, že jste všechny experimenty prováděli současně? Pokud ano, ale i v případě, že ne, měly by být v práci vysvětleny důvody, proč tomu tak bylo.
- 4) Související připomínka s bodem 3): Křivka grafu pro stejnou skupinu CTRL, jako je zmíněna v bodě 3) nevypadá tak, jak jsme u kontrol zvyklí. Taková křivka by měla plynule nebo místy i rychleji, ale stále stoupat a vyjadřovat tak, že se objem tumoru s přibývajícím časem stále zvětšoval. Vaše křivka ale nejprve stoupá, pak mezi dny 12 a

14 docela výrazně klesne a dále se další dva týdny udržuje na stejných hodnotách nižších, než byly v den 12. To se dá vysvětlit jediň tak, že v den 12 uhynula myš s největším tumorem, průměr objemů se tak zmenšil a dále příliš nerostl. Jestli to tak bylo, je určitě chyba, že to není uvedeno v popisu grafu. Můžete to prosím vysvětlit?

- 5) Zdá se mi, že v případě, kdy injikujeme ve stejný den na jeden bok myši buňky a vytvoří se tumor, a na druhý bok také a vytvoří se druhý tumor – že se nejedná o simulaci metastázy, ale o dva primární tumory a tak by se to i mělo v dalších hodnoceních uvažovat (str. 25, kap. 3.9.1.).
- 6) Ve všech grafech, které ukazují přežití myši v experimentu (obr. 9, 11, 13, 15) je vidět, jak postupně po jedné ubývaly myši v různých skupinách. Není ale možné zjistit, jestli myši uhynuly bez tumoru (např. na kachexii, toxicitu, či jiné problémy) nebo jestli byly ukončeny pro velký tumor. Toto by mě velmi zajímalo, ale z práce to nemám možnost zjistit. Pokud bych to chtěla najít v grafu růstu tumorů, nejde to, protože se tam jedná o průměrné hodnoty velikosti tumorů všech myši a ne o jednotlivé myši. Doporučovala bych přidat do výsledků i zdrojová data, ze kterých grafy vycházejí.

Otázky:

- 1) Jakým mechanismem dojde k tomu, že se Manan-BAM ukotví do membrány nádorových a nikoliv nenádorových buněk?
- 2) Proč jste vybrali právě buňky Panc02? Je na nich totiž zajímavé, že podle uvedených dat rostou velmi pomalu. Myši se dožívají i bez jakékoliv léčby až 60 dní od aplikace buněk a to je nezvykle dlouho. Neuvažovali jste zkusit experimenty i na jiné buněčné linii?
- 3) Vyrostly vám vždy u všech myši všechny tumory po aplikaci Panc02 buněk stejně velké a ve stejný den? V práci je totiž postup popsán tak, že jste např. 24 myším aplikovali buňky Panc02 a dvanáctý den jste myši náhodně rozdělili do skupin. Ze zkušenosti vím, že správný postup je, že změříme všechny tumory ve stejný den, zvážíme myši, aby byly ve všech skupinách podobně hmotné a rozdělíme je do skupin tak, aby všechny skupiny byly, co do velikosti tumorů a hmotnosti myši, stejné. Tomuto postupu se říká stratifikace. Bez ní se může stát, že některá myš už má tak velký tumor, že je pravděpodobnost vyléčení malá a nebo zase jiná myš nemá žádný a možná jí ani nikdy nenaroste. To potom průměrné výsledky dost ovlivní. Možná jste stratifikaci prováděli, jen mi to není z postupu jasné. Můžete nám o tom povědět více?
- 4) Proč byly myši chovány v klecích po jedné odděleně od ostatních (str. 22, kap. 3.2.)? Samice myši nemají problém být ve skupině a dokonce je to pro ně přirozené a příjemné. Situace, kdy je v jedné kleci jen jedna myš je i u samců stresující a u samic ještě mnohem více. Existuje několik možností, jak myši označit, aby bylo přesně jasné, která v kleci je která. Např. transparentním fixem udělat proužky na ocase a zhruba po 10 dnech je obnovit, aby byly dobře vidět. Navíc je chov po jednom zvířeti v kleci finančně mnohem náročnější.
- 5) Snášely myši léčbu MBTA vždycky dobře? Nehubly, neježily se, vypadaly spokojeně?

- 6) Líbil se mi postup a výsledky u experimentu 4.5. – Terapie rekurencí a prodloužení přežití. Nebylo by ještě účinnější zkusit dávat i.p dávku MBTA preventivně v nějakém intervalu (např. po 45 dnech) všem léčeným myším?
- 7) Otázka ke kapitole 4.5. Terapie rekurencí a prodloužení přežití: zajímalo by mě, kolik z celkového počtu léčených 31 myší mělo v den 71 tumor a kolik bylo bez tumoru, jestli jste dále léčili pomocí MBTA jen prezentované 4 myši, nebo jich bylo více, podle čeho jste je vybrali? Jaké přežití měly ostatní nevybrané myši?

Drobné formální připomínky:

- 1) Str. 28 Tab IV – oddíl B 2x stejný
- 2) Str. 23, kap. 3.3. v kultivačních lahvích v médiu DMEM
- 3) Obecně – věta nemá začínat zkratkou a ani končit řádek např. 10 a na dalším řádku pak začínat μl (str. 33)
- 4) Str. 55 – 2x ve větě neuchytili/y

Závěr:

Velmi kladně hodnotím aktuálnost a potřebnost práce. Jedná se o zajímavou a dobře zpracovanou magisterskou práci. Autorka prokázala, že je schopná samostatně řešit zadanou problematiku po stránce teoretické i praktické. Naučila se základní i některé složitější laboratorní metodiky i práci s laboratorními zvířaty.

Práci

d o p o r u č u j i

k obhajobě a navrhuji známku

v ý b o r n ě

V Praze dne 13.5.2022


.....
Eva Pokorná