

Oponentský posudek bakalářské práce Markéty Skaličkové na téma: Regulační T lymfocyty a nádorová onemocnění

Bakalářská práce Markéty Skaličkové se zabývá rolí regulačních T lymfocytů na potlačení růstu nádorů v myším modelu. Autorka studovala vliv TLR agonistů, anti-CD40 protilátky a anti-CTLA-4 protilátky na rozvoj pankreatického adenokarcinomu. Práce tak posouvá dál výzkumný projekt Dr. Ženky, jehož tým se možnostmi léčby rakoviny zabývá.

Práce je přehledně dělena na 9 kapitol. Po krátkém úvodu následuje nejdelší kapitola, „Teoretická část“, která čítá 39 stran z celkových 76 včetně citací. Autorka se nejdříve věnuje obecně nádorovým onemocněním a možnostem jejich léčby. Poté podrobněji popisuje pankreatický adenokarcinom, který je tématem praktické části práce. Následuje popis role různých subpopulací T lymfocytů při zánětu a interakcích v místě nádoru. V poslední sekci v teoretické části autorka přibližuje výzkum léčby pankreatického adenokarcinomu a uvádí vlastní praktickou část. Po faktické stránce je tato kapitola v pořádku. Výhrady mám spíše k jejímu zpracování, kdy je zejména na začátku kapitoly text dost rozkouskovaný a je těžší najít souvislosti. Také zde občas dochází k opakování informací. Příkladem je popis diferenciací nTreg buněk na str. 30 a popis iTreg na str. 36, kdy je totožná téměř celá strana. Jistě by to šlo vyřešit v jedné větě odkazem na předešlý text. U kapitoly „Teoretická část“ bych proto doporučil zkrácení tak, aby byly zachovány důležité informace a bylo omezeno množství okolního textu.

Další rozsáhlejší kapitolou je „Praktická část“, ve které autorka uvádí seznam použitých chemikálií, informace o laboratorních myších, buněčných liniích, složení terapeutických látek a popisuje metodu experimentu. V seznamu chemikálií chybí několik položek, jinak je v pořádku; tak jako zbytek kapitoly.

V kapitole „Výsledky“ jsou prezentovány data ze 2 experimentů studia adenokarcinomu, a to velikost nádoru a přežívání myši v závislosti na druhu zvolené léčby. U obrázků 17 a 20 chybí vysvětlení, jak byla vyhodnocena velikost nádorů. Je to velikost na konci léčby, průměrná velikost za celou dobu léčby nebo něco jiného? Dále mám spíš doporučení než připomínky ke grafům: Statistickou významnost u sloupcových grafů je zvykem uvádět nad sloupec pomocí úsečky a hvězdičky a ne k legendě (obr. 17 a 20); u obr. 18 a 21 by se pod osu x určitě vešly i vynechané popisky.

V „Diskuzi“ autorka shrnuje poznatky z Teoretické části, kde popisuje jaká terapie by měla být vhodnou při léčbě adenokarcinomu. Poté autorka porovnává své výsledky s dalšími studiemi a popisuje protinádorový vliv jednotlivých složek terapeutické směsi. Právě popis jednotlivých složek (Manan-BAM, LTA, ...) by byl vhodnější v úvodní části. Takto se nejdříve dozvídáme o efektu různých molekul a poté až, co je jejich role a proč byly použity právě tyto.

Následují kapitoly „Závěr“ a „Seznam použitých zkratk“. Seznam „použité literatury“ o 102 citacích je prezentován v jednotném stylu, jen v několika případech je uveden dříve rok vydání a poté časopis, nebo naopak. Zvláštností je formát, kdy u prvního autora je uvedeno příjmení a jméno a u dalších autorů jméno a pak příjmení. Také není nutné u citací psát „Dostupné z:“. Jedinou chybějící citací, která není uvedena v seznamu je Takeuchi 1999 na str. 56.

Vzhledem k tomu, že teoretický úvod představuje s téměř 40 stranami více než polovinu rozsahu textu a ve výsledcích jsou prezentovány na 6 stranách data ze dvou experimentů, je práce na pomezí mezi rešeršní a experimentální. Osobně bych v praktické části uvítal širší spektrum metod, se kterými by se autorka seznámila, což by vedlo k většímu množství výsledků.

Bakalářskou práci Markéty Skaličkové považuji za poměrně zdařilou, přesto k ní mám následující připomínky a návrhy:

- Str. 2: Nejasné vyjádření: „Ve státech Kalifornie a Florida bylo také odhadnuto **největší úmrtí** na rakovinu slinivky břišní”.
- Str. 5: Druhá polovina odstavce **Benigní nádory** se věnuje tématu maligních nádorů, které je zpracované v předchozím odstavci.
- U odkazů na obrázky v textu není vhodně použito slovo „viz“, které vyjadřuje rozkazovací způsob a nelze tedy použít jako přísudek k podmětu ve větě. Doporučuji ho nahradit například výrazem „je zobrazen na Obr. 1“. Případně výraz „viz“ v samostatné větě nebo v závorce.
- Zkratka PRR znamená Pattern recognition receptor, je proto zbytečné psát PRR receptory, kdy už je slovo receptory součástí zkratky. To samé platí pro výraz DC buňky, kde „C“ je za slovo buňky.
- V textu jsou několikrát zmíněny „Checkpointové inhibiční molekuly“ bez dalšího vysvětlení, o co se jedná.
- Str. 14: Výraz „zánětlivý program“ není příliš jasný
- Str. 17: U několika případů by bylo vhodnější uvádět původní citace. Například u věty: „Mečnikov jako první dokázal, že přítomnost cizí látky způsobila migraci buněk hostitele do místa poškození a fagocytózu, které vedly k zničení této cizorodé látky“ by bylo vhodnější citovat Mečnikova. Další případy jsou na str. 17 Virchow, str. 20 Sakaguchi.
- Str. 37: Je špatně uveden odkaz na obrázek 13 (psáno jako 11)
- Str. 43: **Fetal** Calf Serum; ne **Fatal**
- Str. 57: Monoklonální protilátka anti-CTLA-4 byla zavedena do terapeutické směsi **kvůli** přítomnosti Tregs v nádoru. Ne ...**díky** přítomnosti...

K práci mám následující otázky:

1. Jak již bylo zmíněno výše, prosím o vysvětlení, co přesně znázorňují grafy na obrázcích 17 a 20.
2. Na str. 19 uvádíte, že vysoké hladiny IL-6 vedou ke konverzi Treg buněk na efektorové T buňky. Byl vliv IL-6 testován v terapii nádorů? Případně s jakými výsledky?
3. Na str. 37 zmiňujete „řadu událostí“ způsobených interakcí mrzi CTLA-4 na Treg a CD80/86 na APC. Jaké události to jsou?
4. Z jakého důvodu byla terapie aplikována do nádoru vždy 2 dny v týdnu, po kterých následovala pětidenní pauza?
5. V práci jste prováděla opakovaný vpich Panc02 buněk do stejného boku, jako při prvním vpichu. Na str. 41 uvádíte, že Winograd prováděl druhý vpich na opačném boku. Může to mít nějaký vliv na úspěšnost retransplantace?
6. V závěru navrhuje provést odpovídající experimenty zaměřující se na bližší pochopení vlivu cytokinů, vznikajících v průběhu terapie, a zánětlivého prostředí na funkci Tregs. Navrhněte prosím, o jaké experimenty by se mohlo jednat.

Přes určité výtky, které k práci mám, se domnívám, že práce splňuje podmínky na ni kladené. Práci doporučuji k obhajobě s výsledným hodnocením závislým na ústní prezentaci práce autorkou.

V Českých Budějovicích 15. května 2018


Mgr. Jan Kotál