

Oponentský posudek na diplomovou práci Bc. Kamily Masákové *Nádorová imunoterapie založená na mechanismech vrozené imunity a studium možnosti zvýšení její účinnosti úpravou nádorového prostředí*

Předložená diplomová práce rozvíjí problematiku nádorové imunoterapie, dlouhodobě studovanou výzkumnou skupinou Dr. Jana Ženky. Autorka se zabývá možností zefektivnění účinku již otestované terapeutické směsi pomocí úpravy nádorového prostředí. Autorka používá dva enzymy – laktát oxidázu a laktát-2-monooxygenázu, dále nikotinamidadenindinukleotid s hydrogenuhličitanem sodným. Enzymy byly v experimentech fúzovány s BAM kotvou, pomocí které se vázaly na nádorové buňky.

Práce má 59 stran a je rozdělena na standardní oddíly. Jednotlivé kapitoly jsou sepsány kvalitně a přehledně, experimenty jsou také dostatečně popsány. Celkově tak práce působí vyrovnaně a dobře se čte. V úvodu autorka velmi stručně představuje smysl a záměr práce. Literární řešerše nejprve zevrubně popisuje situaci v nádorovém mikroprostředí, a jakým způsobem by ho měly ovlivnit použité látky. Až poté se autorka věnuje obecnějšímu úvodu – klasifikace nádorů, popis pankreatického adenokarcinomu, jako modelového onemocnění, možnosti léčby. Dále pak roli imunitního systému, a jak je tento ovlivněn nádorem. Nakonec popisuje princip imunoterapie zavedené Dr. Ženkou. K této části mám jen pár připomínek. Celá kapitola 2.1., tj. popis nádorového mikroprostředí a možnosti jeho ovlivnění, by měla být až na konci úvodu. Obecně by při psaní mělo platit, že se autor dostává od obecného ke konkrétnímu a k samotnému záměru své práce.

Na str. 14 je napsáno, že „nádorové buňky ligují kontrolní body, tzv. checkpointy imunitního systému.“ Takto napsáno to nezní nejlépe. Je lepší napsat, že buňky váží molekuly. Podobně nešťastné je převedení anglického výrazu „mucociliar clearance“ do češtiny, jako mukociliární clearance.

Cíle práce jsou velmi vágně definované, měly by být definované specifitěji.

Metody jsou sepsány přehledně a nemám k nim žádné připomínky. Jen opravím, že podmínky nejsou standartní, ale standardní.

Výsledky jsou popsány také přehledně a srozumitelně. Mám výhrady ke grafickému zpracování grafů. Liniové grafy by měly mít kontrastnější odstíny, nebál bych se použít barvy, většina grafů má titěrné, špatně čitelné písmo. Prezenci dat by se měla věnovat dostatečná pozornost a při obhajobě je třeba toto zohlednit.

Obr. 3 a 9 nemá žádné odchylky u hodnot. **Byla měření opakována?**

Dle mého názoru by měly obrázky obsahovat i informaci o počtu myší ve skupině, tedy číslo n a použitý statistický test pro vyhodnocení. U grafů, které vyjadřují AUC by mělo být ještě jednou zmíněno, co číslo vyjadřuje, tedy, že AUC znamená area under curve. Je to sice v metodách, ale pro přehlednost by to neškodilo.

Obrázek 8. – proč nebyl pokles laktátu sledován dlouhodobě?

Aktivita kotvených enzymů výrazně klesla, proto bylo v pokusu použito větší množství látky. **Podle čeho bylo vypočítáno množství injikovaného konjugátu?**

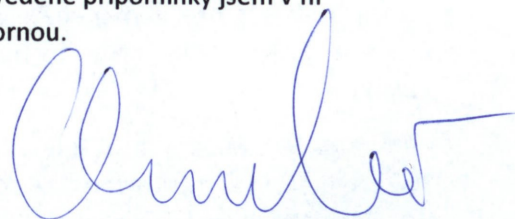
Z výsledků se zdá, že použití LO ani L2M není příliš nadějným směrem v imunoterapii. Přesto je myšlenka úpravy nádorového mikroprostředí zajímavá. Toto prostředí by mělo být upraveno tak, aby vyhovovalo imunitním buňkám a nevyhovovalo nádorovým. **Jaké parametry a jakým směrem by tedy měly být ideálně modifikovány a byly tyto pokusy prováděny jinde než v laboratoři Dr. Ženky?**

Diskuze by zasloužila podrobnější srovnání s dostupnou literaturou, některé diskutované efekty by určitě našly vysvětlení nebo podporu v jiných pracích.

V závěru tak úplně nesouhlasím s tvrzením, že enzymy snížily koncentraci laktátu, protože není známo, jak dlouho tento účinek trval. Bylo by třeba, aby trval několik dní, po dobu pulsu, ale experimentálně to ověřené není.

Celkově se jedná o velmi dobře zpracovanou práci a až na výše uvedené připomínky jsem v ní nezaznamenal žádné vážné nedostatky. Práci hodnotím jako výbornou.

V Českých Budějovicích dne 16.5.2018

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'Chmelař', with a stylized flourish at the end.

RNDr. Jindřich Chmelař, Ph.D.

**Oponentský posudek na magisterskou diplomovou práci Bc. Kamily Masákové:
„Nádorová imunoterapie založená na mechanismech vrozené imunity a studium
možnosti zvýšení její účinnosti úpravou nádorového prostředí“**

Bc. Kamila Masáková v diplomové práci popisuje pokusy o změnu nádorového prostředí pomocí změny pH a odbourávání laktátu různými metodami. Navazuje na předchozí práce ve skupině dr. Ženky. Analýza významu vnitřního prostředí nádoru a jeho změn je důležitý krok k pochopení imunoterapie nádorů a přispívá k dalšímu pochopení této zajímavé a důležité problematiky.

Formálně se jedná o klasicky členěnou diplomovou práci sestávající z literárního úvodu, vytyčených cílů, popisu použité metodiky, prezentace výsledků a diskuse ukončené stručným, ale přehledným souhrnem dosažených poznatků. Úvod je dostatečně přehledný a podrobný, shrnuje důležitá východiska pro vlastní práci. Popis metodiky je dostačující, výsledky jsou shrnuty přehledně, diskuse je smysluplná.

Zásadní připomínky

nejdou

Mírně závažné připomínky

Na str. 26 při popisu stanovení laktátu chybí údaj o teplotě, při které byly vzorky inkubovány. Dále není vyjádřeno používané množství vzorku (vyjádření „určité množství“ je poněkud nešťastné). Z dalšího textu vyplývá, že množství vzorku se v jednotlivých testech lišilo, ale to by se dalo korektně napsat i v úvodní metodické zmínce.

str. 45 a 46 – mluvit o tom, že je důležitý vztah mezi množstvím imunitních a nádorových buněk a redukcí velikosti nádoru je bez literárního odkazu nebo experimentálního podložení poněkud odvážné (i když jde o logický závěr).

Drobné připomínky

Používání slova rakovina ve smyslu nádor. Podle klasifikace se pojem rakovina vztahuje jen na část nádorů a nelze to zobecňovat (anglické slovo „cancer“ má posunutý význam)

Přechodné zvýšení koncentrace laktátu mechanickým poškozením (injekcím) je možné. Ale dělal to někdo experimentálně (např. injekcí nepufrovaného fyziologického roztoku a následným změřením? Jinak je to hypotetický předpoklad.

na str. 24 je matematicky nesprávně zapsán vzoreček pro výpočet objemu nádoru (častá chyba).

Závěr

Předložená magisterská diplomová práce Bc. Kamily Masákové se mi jeví jako kvalitní a přínosná. Uvedené připomínky jsou pouze víceméně formálního charakteru. Práci proto považuji za plně vyhovující požadavkům Přírodovědecké fakulty Jihočeské univerzity a **doporučuji ji proto k obhajobě.**

V Českých Budějovicích 10. května 2018

MUDr. Eva Žampachová

