

OPONENTSKÝ POSUDEK na diplomovou práci

Název práce: **Vliv tkáňových helmintů na rozvoj nádorových onemocnění v modelových organismech**
Autor: **Bc. Manfred Schreiber**
Studijní program: Biologie
Studijní obor: Parasitologie
Pracoviště: Katedra parazitologie PřF UK
Školitel: prof. RNDr. Petr Horák, Ph.D.

Diplomová práce se zabývá interakcemi mezi larválními stadii tasemnic druhů *Mesocestoides corti* a *Taenia crassiceps* a nádorovými buňkami melanomové linie B16F10, konkrétně možnostmi ovlivnit růst a metastázování nádorů *in vivo*, u experimentálních zvířat BALB/c, C57BL/6J a ICR, a *in vitro*. Jedná se o práci, jejíž výsledky mají mimo jiné přispět k zavedení laboratorních modelů pro výzkum v uvedené problematice.

Autorovy výsledky naznačují, že vývojová stadia uvedených tasemnic, resp. jejich produkty, mohou u experimentálně infikovaných myší vykazovat lokální cytostatický efekt. To by potvrzovaly i výsledky získané různými *in vitro* technikami, kterými bylo prokázáno, že exkrečně/sekreční (E/S) produkty tasemnic vedou sice ke snížení viability nádorových buněk, ale také k jejich zvýšené migraci. Tyto výsledky naznačují, že na průběh nádorového onemocnění se budou podílet jak produkty parazitů, tak imunitní odpověď hostitele. Pilotní studií autor ukazuje na změny v imunitní odpovědi hostitelů po infekci *M. corti*, jež se projevuje nárůstem populace makrofágů a granulocytů v peritoneu. Je otázkou, zdali produkty tasemnic *M. corti* mohou systémově ovlivňovat průběh nádorového onemocnění. Z předložených výsledků pokusu, ve kterém byly po intraperitoneální infekci *M. corti* nádorové buňky aplikovány experimentálním zvířatům intravenózně, se zdá, že možná nikoliv. Budeme-li uvažovat o možnosti ovlivnit průběh nádorového onemocnění produkty tasemnic, pak dle autora a v souladu s doposud známými (velmi nedostatečnými) literárními údaji, bude pro hostitele zásadní jeho aktuální stav imunitní odpovědi v době vzniku onemocnění.

Z četných výsledků je patrné, že si autor musel osvojit pro diplomovou práci nezvykle rozsáhlou řadu metodik. Kruciólním bylo zavedení laboratorních modelů *M. corti* a *T. crassiceps*, které umožnilo získat dostatečné množství studijního materiálu. Rozličné techniky, které si osvojil, zahrnovaly odchyt hlodavců ve volné přírodě a jejich vyšetření, experimentální infekce parazity a aplikace nádorových buněk, kultivace helmintů či nádorových buněk (včetně sledování migrace buněk v trojrozměrném prostředí či Scratch test), metody izolace E/S antigenů, měření viability nádorových buněk, histologické techniky, průtokovou cytometrii, atd.

Přestože výzkum autora přinesl řadu pozoruhodných výsledků, které získal rozmanitými metodami, práce trpí některými nedostatky. Obecně je třeba uvést, že některé potřebné informace chybí nebo nejsou uvedeny v odpovídajících kapitolách tak, jak je zvyklostí v odborném vědeckém pojednání. V literárním úvodu nebo v metodice by bylo např. vhodné umístit stručnou informaci o tom, kdo a proč využívá právě nádorové buňky uvedené linie a ne jiné. V kapitole Metodika jsou uvedeny informace o odchytu hlodavců za účelem získání parazitů, ale teprve ve Výsledcích je uvedeno, že „tetrathyridia rodu *Mesocestoides* byla získána z volně žijících hlodavců, kteří byli odchyceni studenty v rámci terénního cvičení na Rudě.“ Podílel se autor na odchytu těchto hlodavců nebo pouze uvedení studentů? V Metodice chybí údaje o tom, jak byla provedena determinace parazitů (případně, kdo ji provedl), jejich výsledky jsou

uvedeny v kapitole Výsledky. Z některých metodických pasáží není zcela zřejmé, jak vlastní pokusy probíhaly. Uvádí se např. způsob přípravy myši k intravenózní aplikaci nádorových buněk B16F10 jehlou inzulinové stříkačky, ale údaje, kolik myši a jak bylo infikováno parazity, zjistíme až v kapitole Výsledky, navíc s opakující se informací, že uvedený typ nádorových buněk byl zvolen po navázání spolupráce s laboratoří doc. J. Brábka (uvedeno již v metodice).

Diplomová práce, která čítá 64 stran, se vyznačuje standardním členěním; literární zdroje jsou řádně citovány. Je doplněna o velmi kvalitní fotodokumentaci výsledků. Pro množství výzkumných témat a s tím souvisejících odlišných metodik, se domnívám, že by bylo možná vhodné rozdělit text do několika samostatných oddílů, z nichž každý by zahrnoval metodiku, výsledky a diskusi k danému tématu [např. i) odchyt hlodavců, způsob izolace parazitů a jejich determinace, možnosti jejich kultivace; ii) experimentální infekce - kmeny myši, čím a jak byla zvířata infikována a kdy jim byly aplikovány nádorové buňky, časové intervaly, ve kterých byla zvířata usmrcena a způsoby jejich vyšetření – v tomto případě by bylo možné zvážit, zdali uvedené informace uvést formou tabulky; apod.].

Z dalších formálních připomínek lze zmínit často se objevující chybný slovosled (např. v mnoha větách je sloveso na prvním místě věty); někdy se vyskytují i hrubé chyby (V Poděkování – „melanomovými“ místo „melanomovými“ buňkami). V některých větách dochází ke zbytečnému opakování informací (např. str. 9 a 10: ... Došlo také k nárůstu populace CD8⁺ T lymfocytů infiltrujících nádory, u těchto CD8⁺ T lymfocytů byla zaznamenána snížená exprese PD1... Proč za čárkou nepoužít obrat „u nichž“? Opomímám občasný hovorový způsob vyjadřování („...byla nasbíraná média slita dohromady“, „...byl vyfocen“, aj.) či často zmiňované slovo „dále...“; vyvarovala bych se termínu „pronádorový“ efekt; atd.

K autorovi vznáším několik dotazů:

1. Z jakého důvodu byly ke studiu využity právě nádorové buňky melanomové linie B16F10?
2. Dá se předpokládat, že by produkty tasemnic měly obdobný vliv na rozvoj benigních nádorů?
3. Dají se k úspěšné intraperitoneální infekci myši larválními stadii tasemnic využít stejné injekční jehly, jako v případě aplikace nádorových buněk?
4. Jak si autor vysvětluje, že po intravenózní aplikaci nádorových buněk nedošlo k postižení jater?
5. Podle jakého klíče byly pro hodnocení změn způsobených tasemnicemi a pro průkaz metastazujících buněk zvoleny uvedené histologické metody?

Závěr:

Po formální stránce má předložená diplomová práce některé formální nedostatky, avšak je nezbytné jednoznačně vyzdvihnout neobvykle složitou metodiku práce a velké množství pozoruhodných a potřebných výsledků. To umocňuje i skutečnost, že získané výsledky byly v řadě případů získány metodami, které byly v ČR zavedeny vůbec poprvé. Lze jen doufat, že práce signalizuje počátek nového výzkumného směru v helmintologii u nás. Na základě uvedeného proto jednoznačně uzavírám, že práce splňuje příslušné požadavky a doporučuji její přijetí jako práce diplomové.

V Praze dne 5. září 2020



prof. RNDr. Libuše Kolářová, CSc.
Ústav imunologie a mikrobiologie
1. LF UK a VFN v Praze
Studničkova 7, 128 00 Praha 2