

POSUDEK NA DIPLOMOVOU PRÁCI HELENY CHMELOVÉ

Diplomová práce Heleny Chmelové se zabývá aktuálním a zajímavým tématem využití imunomodulace pro potenciaci chemoterapie nádorů. Důležitost tématu a kvalitu zpracování podtrhuje skutečnost, že výsledky práce byly publikovány v článku v časopise *Cancer Research* (IF = 7.672), přičemž Helena Chmelová je třetí autorkou.

Práce má klasické členění a po formální stránce splňuje všechny náležitosti. Práce je sepsána pečlivě, s naprostým minimem překlepů.

K práci mám několik drobných připomínek a otázek. V literárním úvodu se autorka odvolává na léky schválené pro použití v humánní medicíně FDA, tedy americkým úřadem pro schvalování léčiv. Upozorňuji, že v rámci EU jsou léčiva schvalována EMEA (European medicines agency), která je na FDA zcela nezávislá a posuzuje léčiva podle vlastních kritérií. Možná by tedy bylo vhodné v práci uvést i stav který v imunoterapii nádorových onemocnění panuje v Evropě.

Na obrázku IV.13 na straně 62 je na ose Y vynesena hodnota „procentuální nárůst MFI oproti negativní kontrole“. Zkratka MFI není vysvětlena v textu ani v seznamu zkratk.

V kapitole Materiál a metody je popsána metoda přípravy lymfocytů pro FACS. Posledním krokem této metody je resuspendace buněk v 6% paraformaldehydu (PFA). Buňky pro intracelulární značení byly ale již předtím fixovány komerčním pufrem. Jaký je důvod přidávání PFA?

V kapitole Výsledky v podkapitole IV.1., na obrázku IV.2 je znázorněna vazba biotinylované B1 protilátky na BCL1 buňky *in vitro* pomocí průtokové cytometrie. Vazba je jednoznačně velmi silná a jasně prokázaná. Nicméně při použitých koncentracích protilátky (100 µg/ml, 10 µg/ml, 1 µg/ml a 0,1 µg/ml) je rozdíl signálu pro různé koncentrace nepatrný. V textu je ovšem zmíněno, že: „Intenzita fluorescence, tj. vazby, je koncentračně závislá“. Proč nebyla zvolena jiná ředící řada, kde by byla lépe vidět závislost vazby protilátky na cílové buňky na koncentraci protilátky?

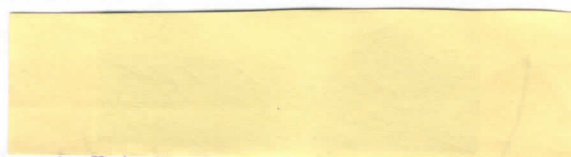
Jak si vysvětlujete rozdíl mezi působením volného doxorubicinu a doxorubicinu navázaného na nosiči s B1 protilátkou na buňky BCL1 *in vitro* (str. 51, obr. IV.3.)?

V podkapitole IV.4.1 je pěkně ukázána selektivní vazba imunokomplexů IL-2/JES6.5H4 na různé typy imunocytů. Nicméně dále autorka pracuje s imunokomplexy IL-2/S4B6, jejichž vazbu na imunocyty v práci neukazuje, a naopak, součástí textu diplomové práce dále nejsou experimenty s dobře charakterizovanými imunokomplexy IL-2/JES6.5H4. Proč byl zvolen tento přístup?

V kapitole IV.4.4 je dokumentována expanze NK buněk ve slezině experimentálních zvířat po podání imunokomplexů IL-2/S4B6 jako procentuální nárůst zastoupení DX5+ NK1.1+ buněk. Z textu ani z grafů však nevyplývá jak byl stanoven počet všech buněk ve slezině. Může to autorka upřesnit?

Přes výše zmíněné minoritní připomínky hodnotím práci jednoznačně kladně.

Práci doporučuji k obhajobě a navrhuji hodnocení „výborně“.



V Praze dne 25. 5. 2009

RNDr. Alena Morávková, Ph.D.