



Oponentský posudek na diplomovou práci Bc. Veroniky Miltrové „Analýza exprese cytokinů u MeliM prasečího modulu regredujícího melanomu“

Předložená diplomová práce se zabývá analýzou cytokinů exprimovaných v krevní plazmě a dále v nádorové tkáni melanomu, včetně srovnání s expresí mRNA pro jednotlivé cytokiny v nádorech. Autorka ke studiu využívá unikátního modelu MeLiM selat, který je na pracovišti dobře zaveden a umožňuje in vivo srovnání progredujícího a regredujícího fenotypu melanomu.

Práce je klasicky členěná, v úvodní kapitole autorka shrnuje současné znalosti o kožním melanomu jeho epidemiologii a vlivu jednotlivých cytokinů, které mohou hrát v rozvoji tohoto onemocnění významnou roli. Tato kapitola je psána přehledně a poměrně jasně, s počtem pravopisných chyb odpovídající magisterské práci. K některým kapitolám, například ke kapitole Interferon γ , mám drobné výhrady, především k celkovému významu IFN γ , vlivu na regulaci MHC. Co přesně znamená „... přítomnost IFN γ u pacientů s melanomem ...“ jde o expresi mRNA v tkáních, nebo hladina proteinu v krvi..? Formální úroveň kapitoly je vcelku dobrá, grafická úroveň je velmi pěkná text je vhodně doplněn obrázky, jen bych doporučila (a to platí pro celou práci), aby popisy obrázků byly na stejné straně jako obrázek.

V kapitole Materiál a metody jsou vysvětleny použité metodiky, pracovní postupy jsou popsány velmi podrobně, takže jistě umožňují jejich přesné opakování. Autorka uvádí, že standardy cytokinů pro multiplexovou analýzu ředila vícekrát, aby získala lepší pokrytí kalibrační křivky. Otázkou je, zda se u některých cytokinů nedostala při ředění pod detekční limit metody? Což je zvláštní především proto, že hodnoty pod detekčním limitem v následné analýze vyřazovala ze souboru. Výsledky jsou vcelku přehledně shrnuty, jenom sloupcové grafy v obrázku 12 mi připadají poněkud méně přehledné, preferovala bych bodové grafy podobně jako obrázku 17.

Diskuse je obsáhlá, také obsahuje více gramatických přehmatů, nicméně některé výsledky (především rozdíl v hladině IL-4 v séru, která je nejzajímavějším výsledkem práce) jsou diskutovány jen krátkoučce, vůbec nejsou zmíněny články popisující negativní korelaci u výše zmíněného cytokinu. Literárních odkazů je v diplomové práci dostatek a jsou správně citovány.

Autorka v předložené diplomové práci splnila vytyčené cíle: dokumentovala hladinu cytokinů na proteinové úrovni v séru a nádorové tkáni, kde ji srovnala s expresí mRNA pro dané cytokiny,

prokázala významný rozdíl v produkci IL-4 mezi progredujícími a regredujícími selaty. Některé z dosažených výsledků mohou v dalším časovém horizontu pomoci objasnit mechanismy regrese melanomu.

Výše uvedené připomínky významně nesnižují kvalitu diplomové práce, předloženou práci doporučuji k obhajobě a kladnému ohodnocení.

Otázky:

1. Z obrázku 11 vyplývá, že melanomy selat s progredujícím fenotypem vykazují většinou histologický obraz regrese v různých stádiích, naopak některá selata s regredujícím fenotypem mají na počátku sledování histologický obraz regrese. Můžete komentovat? Jaký má potom význam v obrázku č. 13 řazení do skupin podle histologického obrazu, a nikoliv podle fenotypu, nedochází tak ke ztrátě informace?
2. Proč jsou při analýze hladin cytokinů v plazmě (obrázek 12) vyřazeny hodnoty pod detekčním limitem? Nedochozí tím ke zkreslení celkového obrazu, když jsou zvířata s nízkou produkcí cytokinů vyřazena? Je jasné, že v outbrední skupině zvířat budou rozdíly, limitem je také omezený počet zvířat, ale nezkrslují více analýzu 3 selata ze skupiny L656, která se výrazně liší v produkci cytokinů? Jak by vypadalo srovnání pouze zvířat narozených 19.9. 2018, která jsou v každé skupině 4?
3. Může autorka více diskutovat možné mechanismy protektivního působení IL-4? Může zvýšená hladina IL-4 korelovat se vyšším počtem bazofilů?
4. Koreluje produkce/exprese cytokinů se závažností onemocnění?
5. Může být produkce alespoň některých cytokinů korelována s infiltrací buněk imunitního systému do tkáně melanomu?

V Praze 6.7.2020

Doc. RNDr. Magdaléna Krulová, Ph.D.

Katedra buněčné biologie, PřF UK

