



Oponentský posudek na diplomovou práci

Název práce: Microbiota as a modulator of carcinogenesis

Jméno autora(ky): Bc. Iva Benešová

Oponentka: Doc. RNDr. Magdaléna Krulová Ph.D.

Předložená diplomová práce se zabývá studiem vlivu střevní mikrobioty na protinádorovou terapii navozenou podáním checkpoint inhibitorů. Téma práce je velice aktuální, studium působení mikrobioty v různých oblastech spojených s imunitním systémem, je v současné světové literatuře věnována stále větší pozornost.

Práce má klasický formát, v úvodní části autorka shrnuje současné znalosti o mikrobiotě a její interakci s imunitním systémem ve střevu, proti-nádorovou imunitní odpověď, mechanismus působení checkpoint inhibitorů a vliv mikrobioty na úspěch proti-nádorové terapie. Tato část je podrobně zpracována, kvalitu textu částečně snižuje kolísající úroveň angličtiny (viz níže).

V části Materiál a metody jsou popsány metodické přístupy využívané v diplomové práci, všechny metodické přístupy jsou popsány velice pečlivě, použité chemikálie, přístroje i software přehledně shrnuty do tabulek.

V části Výsledky autorka dokumentuje získané výsledky. Především se mi líbila část, kdy autorka krok po kroku dokumentuje přípravu modelu, včetně výběru množství použitých nádorových buněk, dávky aPD-1 a přípravy suspenze z nádorových buněk. Není mi ale jasné, jaká byla kritéria pro výběr měřených znaků v následných pokusech. Proč byly z Peyerových plátů stanovovány pouze cytokiny, a v mezenterálních lymfatických uzlinách populace imunitních buněk pomocí průtokové cytometrie? Proč jste se v pokusech zaměřených na vliv současného podávání ATB a aPD-1 zaměřili na populaci Th1, ale v PP ani MLC nebyla měřena produkce IFN- γ , když naopak v nádorové tkáni bylo množství IFN- γ pozitivních buněk signifikantně zvýšeno? V další části práce, u myší s přenesenou mikrobiotou jste se zaměřili na Th17 populaci, IL-17 však v PP nebyl detekován, opět v MLN byly Th17 lymfocyty určeny přítomností transkripčního faktoru ROR γ t a v nádoru byly měřeny IL-17⁺ buňky? Vysvětlení volby znaků v jednotlivých experimentech by jistě bylo vhodné.

Získané výsledky jsou vhodně a pečlivě na 9 stranách diskutovány, literární odkazy použité v diplomové práci jsou správně citovány. Autorka dále shrnuje navrhované modely společné působení střevní mikrobioty a aPD-1.

V předložené diplomové práci autorka prokázala znalost řady laboratorních metod, včetně pokročilých technik. Získané výsledky jsou zajímavé a v kontextu světové literatury nebyly dosud popsány. Autorka tak prokázala schopnost získávat, interpretovat a diskutovat výsledky získané pomocí vhodného modelu. Kvalitu práce snižuje anglický jazyk, jehož úroveň kolísá, občas je

angličtina diplomové práce spíše kostrbatá, což ztěžuje čtení i pochopení textu. Také formální úroveň práce má kolísavou úroveň, např. neformátovaných lichých stran textu, nebo prohozené sloupce v obr 11E. Když odhlédnu od těchto spíše rušivých záležitostí, práce obsahuje zajímavé výsledky, které jsou vhodně dokumentovány, a především diskuze je velmi zdařilá.

Výše uvedené připomínky významně nesnižují kvalitu diplomové práce, předloženou práci doporučuji k obhajobě. Moje očekávání vysoké kvality práce, vzhledem k výborným výsledkům práce v průběhu studia nebylo zcela naplněno, přesto se jedná o velmi kvalitní práci, kterou celkově hodnotím mezi stupni výborně – velmi dobře.

Doplňující otázky:

1. Na straně 12 zmiňujete nádorový mikrobiom. Jak tento mikrobiom vypadá, je specifický pro nádor, pro hostitele? Liší se u pacientů, kteří odpovídají/neodpovídají na protinádorovou terapii? Jaký je mechanismus migrace bakterií ze střeva do nádorové tkáně?
2. Myší a lidský mikrobiom se liší, je možné výsledky získané na myším modelu přenést na člověka?
3. Zajímaly by mě změny v zastoupení PD-1 pozitivních T lymfocytů po aPD-1 terapii. V diplomové práci uvádíte, že tento znak bude teprve do sledovaného panelu zařazen, přesto – máte již nějaké výsledky, případně co je známo z literatury?
4. Očekávala byste obdobné výsledky vašich pokusů při použití aCTLA-4 terapie?
5. Jaký je vliv použitého spektra ATB na výslednou proti-nádorovou odpověď?
6. Populace $\gamma\delta$ T lymfocytů hraje významnou roli v imunitním systému střeva. Podílí se tato populace také na interakci v rámci osy střevo-nádor? Může být ovlivněna terapií pomocí aPD-1?

V Praze dne 27.8.2021

Doc. RNDr. Magdaléna Krulová, Ph.D.
Katedra buněčné biologie, PřF UK